Aus dem Pathologischen Institut der Universität Tübingen
Abteilung für submikroskopische Pathologie und Neuropathologie
Leiter: Professor Dr. med. W. Schlote

Die Bedeutung der Gliabarriere als limitierender Faktor für die Nervenfaserregeneration

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin
der Medizinischen Fakultät
(Theoretische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Peter Enke
aus Erpolzheim

1981

Aus dem Pathologischen Institut der Universität Tübingen
Abteilung für submikroskopische Pathologie und Neuropathologie
Leiter: Professor Dr. med. W. Schlote

Die Bedeutung der Gliabarriere als limitierender Faktor für die Nervenfaserregeneration

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin
der Medizinischen Fakultät
(Theoretische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Peter Enke
aus Erpolzheim

1981

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan: Prof. Dr. med. H. Haselmann

1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. W. Schlote

2. Berichterstatter: Prof. Dr. med. M. Stöhr

Inhaltsverzeichnis

I. Einführung und Fragestellung S. 1

1. Die Regenerationspotenz im ZNS und die Bedeutung ihrer Erforschung S. 1

2. Fragestellung für die eigenen Untersuchungen S. 1

3. Gesichtspunkte für die Wahl des Untersuchungsmodells S. 2

II. Reaktion und Regeneration der Axone im Zentralnervensystem der Vertebraten S. 3

1. Die Grundvorgänge bei der Durchtrennung von Axonen S. 3

1.1. Reaktion des Axons auf die Läsion S. 3

1.2. Reaktion der Glia an der Läsionsstelle und im Bereich der Waller'schen Degeneration S. 5

1.3. Reaktion der Glia an den Perikarya der axotomierten Nervenzellen S. 6

2. Die Morphologie der Gliazellen im ZNS S. 6

2.1. Der ruhende und der reaktive Astrozyt S. 7

2.2. Der ruhende und der reaktive Oligodendrozyt S. 7

2.3. Die ruhende und die reaktive Mikroglia S. 8

2.4. Der "third glial cell type" und das Herkunftsproblem der Gehirnmakrophagen S. 9

3. Die zwei Formen der Regeneration im Zentralnervensystem S. 9

3.1. Die Regeneration der axotomierten zentralen Faser S. 9

3.1.1. Bei niederen Vertebraten S. 9

3.1.2. Regeneration bei neugeborenen Säugern S. 10

3.1.3. Besonderes Verhalten bestimmter zentraler Fasersysteme in bezug auf die Regeneration S. 11

3.1.4. Die Regeneration am adulten ZNS S. 11
3.1.4.1. Transplantationen von peripheren Geweben ins ZNS, fluoreszenz- und elektronenmikroskopische Untersuchungen S. 13
3.1.4.2. Regeneration nach mechanischer und chemischer Axotomie zentraler Nervenfasern S. 15
3.2. Die kollaterale Axonsprossung, Plastizität S. 17
4. 8 Theorien zur Erklärung der abortiven Regeneration im adulten ZNS von Säugern S. 20
4.1. Die "innere Unfähigkeit" des ZNS Neurons der Säugetiere, das durchtrennte Axon zu regenerieren S. 20
4.2. Die undurchdringliche Gliabarriere S. 22
4.3. Die Abwesenheit an Schwannzellen bzw. Schwannzellführungsstrukturen S. 24
4.4. Die planlose, nicht selektive Synapsenbildung S. 24
4.5. Die Autoimmunhemmung der Regeneration im ZNS S. 25
4.6. Die Abwesenheit eines extrazellulären Flüssigkeitsbades im ZNS S. 27
4.7. Die Bildung einer Basalmembran als Barriere S. 28
4.8. Die durch "Autotomie" entstehende zystische Hohlraumbildung S. 31
5. Die zentrale Regeneration stimulierende Substanzen S. 32
5.1. Bakterielle Pyrogene, Piromen S. 33
5.2. Glucocorticoide und ACTH S. 34
5.3. Schilddrüsenhormone S. 34
5.4. Lytische Enzyme S. 34
6. Die Regenerationsbedingungen der peripheren Nervenfaser S. 35
7. Das Auswachsen peripherer Nervenfasern ins Bindegewebe bei Abwesenheit von Schwannzellsäulen S. 36

8. Das Perineurium S. 37

III. Eigene Untersuchungen - Methodik S. 38

1. Untersuchungsobjekt S. 38

2. Operationen S. 38

2.1. Operationsmaterial und Narkose S. 38

2.2. Die Transplantation eines Nervus opticus-Segmentes zwischen die Nervus ischiadicus Stümpfe (Experiment I) S. 39

2.2.1. Die Transplantation einer in situ entstandenen Glianarbe, Prädegeneration S. 43

2.2.2. Opticustransplantate mit Durahülle S. 43

2.3. Die Nervus opticus - Nervus facialis Anastomosierung (Experiment II) S. 43

2.3.1. Klebung der Anastomose mit Histoacryl^{R} S. 45

3. Die histologischen Untersuchungszeiten S. 45

4. Die Behandlung des Gewebes bis zum fertigen Präparat S. 48

4.1. Fixierung und Nachfixierung S. 48

4.2. Der Einbettungsvorgang in Araldit S. 48

4.3. Das Zuspitzen der Araldit blöcke (Trimmen) S. 50

4.4. Herstellung der Semidünnschnitte S. 50

4.5. Semidünnschneiden in mehreren Ebenen S. 50

4.6. Färben der Semidünnschnitte S. 51

4.7. Herstellung der Ultradünnschnitte S. 51

4.7.1. Das Nachtrimmen S. 51

4.7.2. Das Schneiden S. 53

4.7.3. Das Nachkontrastieren der Ultradünnschnitte S. 53

4.7.3.1. Uranylacetatkontrastierung S. 53

4.7.3.2. Bleicitratkontrastierung S. 54

5. Herstellung der licht- und elektronenmikroskopischen Aufnahmen S. 54

6. Das Festhalten der Operationssitus S. 54

IV. Befunde S. 55

1. Transplantationsexperimente (N. opticus - N. ischiadicus S. 55

1.1. Befunde bis eine Woche nach der Transplantation S. 55

1.2. Befunde nach 2 Wochen S. 55

1.3. Befunde nach 4, 6 und 12 Wochen S. 61

1.4. Versuche zur Verbesserung der Ernährungsbedingungen des zentralnervösen Opticussegments S. 70

2. Anastomosierungsexperimente (Facialisast - N. opticus) S. 70

2.1. Befunde nach 3 Wochen S. 70

2.2. Befunde nach 3 Monaten S. 73

V. Diskussion S. 77

1. Erörterung der Anastomosierungsversuche S. 77

1.1. Periphere Nervenfaserregenerate im pialen Hüllmesenchym des N. opticus S. 77

1.2. Die festgefügte Astrozytennarbe des N. opticus-Stumpfes nach 3 Monaten S. 78

2. Erörterung der Transplantationsbefund S. 80

2.1. Mögliche Grenzen der erfolgreichen Durchwachsung des N. opticus-Transplantats mit Axonregeneraten S. 86

VI. Zusammenfassung S. 88

VII. Literaturverzeichnis S. 89

I. Einführung und Fragestellung

1. Die Regenerationspotenz im ZNS und die Bedeutung ihrer Erforschung

Die axonale Regeneration im ZNS, also das Auswachsen von zentralen Nervenfasern nach Läsionen, wurde über lange Zeit hinweg geradezu dogmatisch negiert. So schreibt etwa 1955 CLEMENTE: Eine signifikante Regeneration von zentralen Nervenfasern besteht nicht. Innerhalb von 75 Jahren hat sich an dieser Feststellung grundsätzlich nicht viel geändert (In WINDLE, 1955).
In der letzten Zeit liegen nun Untersuchungen vor, die unter bestimmten Bedingungen eine beträchtliche Regenerationspotenz des ZNS deutlich machen.
Die klinische Bedeutung der Erforschung dieser Problematik ist evident, wenn man weiß, daß es allein in den Vereinigten Staaten 100 000 Patienten mit traumatischen Rückenmarksverletzungen gibt, wobei jedes Jahr 10 000 neue Fälle hinzukommen. Beinahe die Hälfte dieser Patienten entwickelt eine komplette, permanente Para- oder Tetraplegie (CARTER 1975).
Die ersten Arbeiten auf diesem Gebiet liegen soweit zurück, daß sie nur noch medizingeschichtliche Bedeutung haben (ARNEMANN 1787, BROWN-SÉQUARD 1850). Eine Übersicht über den bisherigen Stand der Kenntnisse und über die vorherrschenden Arbeitshypothesen auf dem Gebiet der Regeneration im Zentralnervensystem wird im Abschnitt II gegeben.

2. Fragestellung für die eigenen Untersuchungen

Die nach Läsionen im ZNS ungerichtet proliferierende Glia stellt möglicherweise die entscheidende Barriere für die abortiv sprossenden Axone dar (LAMPERT u. CRESSMAN 1964, SCHLOTE 1970,

ECCLES 1976, AGUAYO 1978, KIERNAN 1978, RAISMAN 1978). Diese hier zur Diskussion stehende Theorie ist jedoch nur eine von mehreren Hypothesen. In dieser Arbeit wird vergleichend auch auf die anderen Hypothesen eingegangen. Über den Einfluß der hauptsächlich astrozytär getragenen Gliaproliferation auf die Regeneration im ZNS wurde schon oft berichtet.
Nur selten jedoch wurde dieses Problem als Hauptaspekt, also unter thematischer Voranstellung licht- und elektronenmikroskopisch untersucht. Die Unfähigkeit zentralnervöser Axone, über längere Strecken zu regenerieren, könnte aber auch auf einem Mangel an ausreichender und kontinuierlicher regenerativer Aktivität des zentralen Neurons selbst beruhen. Um nun für die hier zu untersuchende Fragestellung ein Modell mit nur einem unbekannten Parameter zu erhalten, sollten regenerierende, periphere Axonsprosse gegen eine transplantierte zentrale Glianarbe anwachsen.

3. Gesichtspunkte für die Wahl des Untersuchungsmodells

Als Repräsentant zentralen Nervengewebes wurde der Sehnerv der Ratte gewählt. Der N. opticus stellt embryologisch eine Ausstülpung des Zwischenhirns dar, es handelt sich also um ein zentralnervöses Fasersystem. Damit ist der N. opticus histologisch durchaus z.B. mit den Hintersträngen des Rückenmarks vergleichbar. Während der Waller'schen Degeneration, also nach Abtrennung von den zugehörigen Perikarya, wandelt sich der N. opticus in situ in eine nahezu reine Astrocytennarbe, also in ein festgefügtes Astrozytengeflecht um.
Zunächst wurde versucht, durch autologe freie Transplantation eines Sehnervenabschnitts an den Stumpf eines durchtrennten N. ischiadicus die regenerierenden peripheren Nervenfasern zu veranlassen, gegen das gliöse Stützgerüst des degenerierenden N. opticus vorzuwachsen. Der Zugang zum Sehnerven der Ratte ist retro-

bulbär leicht möglich. Die Operation beeinträchtigt die Tiere nicht so stark wie eine Freilegung des Rückenmarks. Nutritive Störungen verhinderten jedoch ein längeres Überleben der Glia im Opticus-Transplantat, die Abräumung der degenerierenden Opticusfasern und die Organisation des Gewebes erfolgte durch Bindegewebe. Dieser Versuch wird im Text als Experiment I bezeichnet.

In einer zweiten Versuchsanordnung wurde ein N. facialis-Ast mit dem retrobulbär durchtrennten, degenerierenden N. opticus in situ anastomosiert. In diesem Fall blieben die Gliazellen erhalten und bildeten eine dichte Glianarbe. Die aus den proximalen Stümpfen des N. facialis regenerierenden Axone konnten in diesem Fall in die Läsionszone und gegen das gliöse Stützgerüst des N. opticus vorwachsen. Dieser Versuch wird im Text als Experiment II bezeichnet.
Da periphere Nervenfasern bei Läsionen vollständig regenerieren, also über eine sehr gute regeneratorische Potenz verfügen, war zu erwarten, daß der Vergleich der beiden Experimente Aussagen über die Bedeutung der Gliabarriere für die Nervenfaserregeneration allgemein zuläßt.

II. Reaktion und Regeneration der Axone im Zentralnervensystem der Vertebraten

Vor der Schilderung der hier durchgeführten Versuchsreihen sollen die wichtigsten Punkte des Problemfeldes, in dem sich diese Arbeit bewegt, umrissen werden. Besonders interessieren dabei die Reaktion des Axons auf Läsionen, die Morphologie der Gliazellen und das Ausmaß der Regeneration im ZNS. Außerdem sind die Hypothesen über die begrenzte Regeneration und der Einfluß pharmakologischer Substanzen von Bedeutung, letztlich auch die Regenerationsbedingungen der peripheren Nervenfasern.
Die Enzymchemie des Axons, die Reaktion des Perikaryons nach axonaler Läsion und der axonale Longitudinalstoffwechsel spielen bei der Erörterung der Regeneration zentraler Nervenfasern eine wichtige Rolle. Auf diese Aspekte soll hier nicht eingegangen werden, weil dies den Rahmen dieser Arbeit überschreiten würde. Hierzu liegen zusammenfassende Darstellungen vor (COTMAN 1978, WAXMAN 1978).

1. Die Grundvorgänge bei der Durchtrennung von Axonen (Axotomie)

1.1. Reaktion des Axons auf eine Läsion

Aus Untersuchungen an den Hintersträngen des Rückenmarks geht hervor, daß die Endanschwellungen proximal einer Läsion am ZNS ein sehr viel größeres Ausmaß annehmen als dies im peripheren Nervensystem der Fall ist. Es kommt zur Kammerung dieser Endanschwellungen in kleinere Axonsprosse (SCHLOTE 1964, LAMPERT u. CRESSMAN 1964). Diese Axonregenerate enthalten mehr Filamente, Vesikel, Mitochondrien und elektronendichte Körper als das normale Axoplasma (LAMPERT u. CRESSMAN 1964). Sie wachsen

in die sich bildende Glianarbe mit reicher Bifurkationsbildung ein (CAJAL 1928, HAGER 1966, BJÖRKLUND 1971).

Je kürzer die Entfernung der Läsion zum Perikaryon ist, desto eher neigt die Nervenzelle zur retrograden Degeneration. Dies gilt sowohl für das Zentralnervensystem als auch für das periphere Nervensystem (SCHLOTE 1970). Am Sehnerv der Ratte kann dies beispielhaft verdeutlicht werden. Eine Durchtrennung retrobulbär führt unweigerlich zur retrograden Degeneration (CANKOVIC 1968). Bei der gleichen Läsion am Chiasma bleiben die Axone bulbuswärts erhalten. Es kommt nicht zu einem retrograden Zelltod (LEINFELDER 1938). Auch bei der Durchtrennung der Hinterstränge gehen die proximalen Nervenfaserabschnitte nicht zugrunde (LAMPERT u. CRESSMAN 1964).

Oft erscheint diese retrograde Reaktion im Zusammenhang mit dem Abstandsgesetz im ZNS auch durchbrochen. Eine Durchtrennung der Pyramidenbahn im Bereich des Rückenmarks kann zur retrograden Zerstörung der Nervenfasern bis zur Medulla oblongata führen und erst dort zum Stehen kommen (JACOB 1957).

Ein geringer retrograder Zelluntergang bei Läsionen an einer zentralen Bahn scheint immer vorhanden. Dies wurde aber auch für das periphere Nervensystem nachgewiesen (ALDSKOGIUS u. ARVIDSSON 1978).

Bei neugeborenen Ratten war am Tractus rubrospinalis die retrograde Degeneration, bzw. der retrograde Zelltod im Nucleus ruber, größer als bei erwachsenen Ratten (PRENDERGAST 1978).

Die Hüllzellen im zentralen und peripheren Nervensystem sind in der Lage Axoplasma und axonale Organellen bei dieser retrograden Reaktion in sich aufzunehmen (SPENCER u. THOMAS 1974).

In den Stümpfen bzw. Endauftreibungen an der Läsionszone kommt es zum Ansteigen der oxidativen Enzyme. Die Ultrastruktur und Enzymchemie dieser Auftreibungen wurde eingehend untersucht. Eine

Zusammenstellung findet man in der Monographie von SCHLOTE (1970).

1.2. Reaktion der Glia an der Läsionsstelle und im Bereich der Waller'schen Degeneration

Eine lokale Zerstörung der Glia und der Markscheiden ohne Zerstörung der Axone ist auch beobachtet worden. Dies gelang an den Hintersträngen des Rückenmarks durch einen doppelten Reiz, nämlich durch eine initiale Entnahme von Liquor aus dem Subarachnoidalraum mit folgender Rejektion. Es entstehen völlig markfreie Axonbündel. In der Läsionszone findet man dann eine sogenannte reaktive Makroglia, die keiner Gliazellart richtig zugeordnet werden kann (BUNGE, BUNGE u. RIS 1961).

Die Regel jedoch bei Verletzungen des ZNS ist eine Zerstörung des Axons. Die vom Perikaryon isolierten Axonabschnitte entwickeln Fremdkörpercharakter, sie werden phagozytiert (SCHLOTE 1964).

Die Astrozytenwucherung an der Läsionsstelle geht mit einer Vermehrung der Lipophagen (Fettkörnchenzellen) einher. Da der sich entwickelnde Gliafilz keine räumliche Vorzugsrichtung hat, spricht SCHLOTE (1970) von einer anisomorphen Fasergliose.

Distal von Axondurchtrennungen kommt es im Zusammenhang mit der Waller'schen Degeneration zu einer Zunahme der Puncta abhaerentia und gap junctions zwischen den Gliazellen (VAUGHN 1972). Tight junctions treten an Astrozyten nie auf (TANI, HAGAKI u. NAKANO 1977).

Die Anzahl der Astrozyten bleibt nahezu konstant, es nehmen lediglich die Zellfortsätze der Astrozyten enorm zu. Oligodendrozytenveränderungen in Zahl und Morphologie können ausfallen. Es kommt allerdings zu einer Zunahme ihrer Lysosomen, möglicherweise weil sie sämtliche Verbindungen zu den degenerierenden Axonen lösen müs-

sen (VAUGHN 1972).
Die Oligodendrozyten spielen bei den höheren Wirbeltieren für die Phagozytose eine geringe Rolle (VAUGHN 1972, LAMPERT u. CRESSMAN 1964). Dagegen beteiligt sich die Mikroglia an der Phagozytose (BERRY u. RICHES 1974).
Bei chemischer Zerstörung von zentralem Nervengewebe (MEYER-KÖNIG 1973), nach Zerstörungen durch Bestrahlung (MAXWELL u. KRUGER 1965) und in einiger Entfernung von einer mechanischen Läsion (DANIEL u. STRICH 1969, NATHANIEL u. NATHANIEL 1973, ECCLES 1975) kommt der Phagozytose durch reaktive Astrozyten die Hauptbedeutung zu. Astrozyten füllen den Raum aus, den die zugrundegehenden distalen Nervenfaserabschnitte hinterlassen, durch Zunahme des perikaryellen Volumens und ihrer Fortsätze (SCHLOTE 1970, VAUGHN 1972).

1.3. Reaktion der Glia an den Perikarya der axotomierten Nervenzellen

Bei Durchtrennung peripherer Nervenfasern ist die axonale Reaktion des Motoneurons gewöhnlich von einer starken Proliferation perineuronaler Mikrogliazellen begleitet. Es kommt zur Abräumung intakter Synapsen durch Mikrogliazellen an der neuronalen Oberflächenmembran (BLINZINGER u. KREUTZBERG 1968). Die Synapsen an den Zielperikarya axotomierter Nervenzellen des ZNS werden durch Astrozyten phagozytiert und die postsynaptischen Membranen durch astrozytäre Fortsätze besetzt (ECCLES 1975).

2. Die Morphologie der Gliazellen des Zentralnervensystems

Es sollen nun Astrozyten, Oligodendrozyten und Mikrogliazellen jeweils getrennt für den ruhenden und reaktiven Zustand beschrieben

werden, wie sie sich im elektronenmikroskopischen Bild darstellen.

2.1. Der ruhende und der reaktive Astrozyt

Astrozyten besitzen ein helles Zytoplasma und einen wenig elektronendichten, hellen Kern. Innen an der Kernmembran findet man einen Chromatinsaum, außen dichtgelagerte Ribosomen (TORVIK u. SKJÖRTEN 1971). Bei Formalinfixierung findet man die für Astrozyten charakteristischen Glykogenpartikel im Zytoplasma. Diese erleichtern die Identifizierung beim Vorkommen schmaler Astrozytenfortsätze.
Ebenfalls charakteristisch sind auch die 50 Å Fibrillen (MAXWELL u. KRUGER 1965).
Im Zytoplasma ist wenig endoplasmatisches Retikulum vorhanden, dies gilt auch für die Ribosomen-Aggregate (TORVIK u. SKJÖRTEN 1971). Mikrotubuli kommen in reifen Astrozyten im Gegensatz zu den Oligodendrozyten nur vereinzelt vor (RAINE u. WISNIEWSKI 1970). Reaktive Astrozyten zeigen vermehrt Filamente, Golgikomplexe und Ribosomen (NATHANIEL u. NATHANIEL 1973). Ebenfalls kommt es zu einer Zunahme von Mitochondrien, Glykogengranula und Lipidtropfen. Im Kern treten mehrere Nukleoli auf. Schließlich entstehen gebündelte Zytoplasmafibrillen (MAXWELL u. KRUGER 1965).

2.2. Der ruhende und der reaktive Oligodendrozyt

Oligodendrozyten zeigen einen dunkleren Kern und auch ein dunkleres Zytoplasma. Dies ist jedoch ein unsicheres Kriterium, weil die Zytoplasma- und Kerndichte im Bereich der grauen Substanz des ZNS dunkler ist als bei Oligodendrozyten im Bereich der weißen Substanz (KRUGER u. MAXWELL 1956). Man sieht weniger Zellfortsätze aber immer Mikrotubuli und kurze granulierte ER-Segmente. Freie Ribosomen sind zumeist zu Rosetten zusammengelagert (TORVIK u.

SKJÖRTEN 1971).
Das perinukleäre Zytoplasma ist schmal und geht in die ebenfalls nur zarten Fortsätze über (KRUGER u. MAXWELL 1966).
Der reaktive Oligodendrozyt zeigt eine ungleichmäßigere Kerngestalt, große Mengen von Invaginationen an der Zytoplasmamembran, eine expandierende Zytoplasmamenge mit stumpfen, breiten Fortsätzen und eine Akkumulation von pleomorphen elektronendichten Einschlüssen (KRUGER u. MAXWELL 1966).

2.3. Die ruhende und die reaktive Mikroglia

Die normale Mikrogliazelle hat einen noch dunkleren Kern als die Oligodendrogliazelle. Dies gilt genauso für das Zytoplasma. Charakteristisch sind faserhaft lange ER-Zisternen mit und ohne Ribosomen, die über lange Strecken parallel zur Kern- oder Zelloberfläche verlaufen. Hier findet man auch häufig freie Ribosomen (TORVIK u. SKJÖRTEN 1971). Wegen ihrer länglichen Kerne bezeichnet man die Mikrogliazellen auch als Stäbchenzellen.
Wenn rundliche Kerne auftreten, handelt es sich um quere oder schräge Anschnitte. Es existieren ein spärliches ER und ein schmaler Zytoplasmasaum. Die Mikroglia ist im normalen, unverletzten ZNS im Elektronenmikroskop selten zu sehen, weil sie in nur geringer Anzahl vorkommt und im EM ein zu kleiner Bereich überblickt werden kann (BLINZINGER u. HAGER 1962).
Bei der reaktiven Mikroglia kommt es zu einer Vermehrung der Lipideinschlüsse. Es handelt sich dabei um in Phagolysosomen aufgenommene und verarbeitete Myelinballen. Diese Entwicklung kann bis zur Entstehung von Gitterzellen führen (TORVIK u. SKJÖRTEN 1971). Zytoplasma und Kern nehmen an Masse zu, außerdem treten vermehrt Ribosomen in Sternchen- und Rosettenform auf (BLINZINGER u. HAGER 1962).

2.4. Der "third glial cell type" und das Herkunftsproblem der Gehirnmakrophagen

Bei den Oligodendrozyten gibt es Variationen in Form und Größe. Dies führte zur Abgrenzung eines "third glial cell type" vom klassischen Oligodendrozyten durch VAUGHN (1969). Da die Variationen jedoch gering sind, war eine Abtrennung eines zusätzlichen Zelltyps nicht gerechtfertigt (TORVIK u. SKJÖRTEN 1972). Auch VAUGHN stimmte dieser Beurteilung später zu (VAUGHN u. SKOFF 1972). Für den Ursprung der Gehirnmakrophagen wurden Leukozyten des Blutes genauso wie Gefäßperizyten und Mikrogliazellen verantwortlich gemacht. Man kann davon ausgehen, daß unterschiedliche Läsionen zu einer unterschiedlichen Herkunft der Phagozyten des Gehirns führen (VAUGHN u. SKOFF 1972).

3. Die zwei Formen der Regeneration im Zentralnervensystem

Die Regeneration im ZNS beruht grundsätzlich auf zwei getrennten Prinzipien. Das erste Prinzip ist das Auswachsen von Axonsprossen aus der durchtrennten zentralen Nervenfaser selbst. Das andere ist das Auswachsen aus Fasern, die den axotomierten Fasern benachbart sind oder die gleichen Zielneurone besitzen. Diesen zweiten Mechanismus nennt man kollaterale Axonsprossung, mit ihr ist der Begriff der Plastizität verbunden.
Auch bei Säugern wurden noch nach der Geburt Mitosen von Nervenzellen nachgewiesen (ALTMAN u. DAS 1965), eine Regeneration des Neurons als Ganzes ist jedoch unmöglich. Es soll zuerst auf das direkte Auswachsen der zentralen Fasern eingegangen werden.

3.1. Die Regeneration der axotomierten zentralen Faser

3.1.1. Bei niederen Vertebraten

Erzeugt man bei niederen Vertebraten, z.B. beim Goldfisch oder

beim Salamander, halbseitige Rückenmarksläsionen, so kommt es zur Durchwachsung der Läsionszone mit Axonregeneraten. Diese Regenerate reorganisieren neue Synapsen und stellen damit eine funktionelle Regeneration her (PIATT 1955, BERNSTEIN u. GELDERD 1973, BERNSTEIN, BERNSTEIN u. WELLS 1978). Ähnliches gilt für die Durchtrennung des N. opticus dieser Tiere. Die Fasern wachsen anscheinend völlig unbeirrt wieder aus und erreichen ihre Endstellen. Nach Zerstörung der Perikarya in der Retina des Goldfisches entstehen aus teilungspotenten Neuroblasten in der Retina neue Neurone, deren neugebildete Axone wieder den ganzen Sehnerv hindurch auswachsen und ebenfalls ihre synaptischen Endstellen im Tectum auffinden (WOLBURG 1978).
ATTARDI und SPERRY zeigten mit ihrem berühmt gewordenen Experiment am durchtrennten N. opticus des Goldfisches, daß die regenerierenden Fasern genau ihre ursprüngliche Schaltstelle wiederfinden, auch wenn der proximale Stumpf (Auge mit Opticus) um 90° oder 180° gedreht wurde. An den Synapsen muß also irgend ein selektiver Prozeß vorliegen (ATTARDI und SPERRY 1963). Bei Vertebraten unterhalb der Säugerreihe bilden die Nervenfasern aufgrund ihrer synaptischen Chemospezifität also erst dann Endformationen, wenn sie ihren Bestimmungsort erreicht haben (GUTH 1975).

3.1.2. Regeneration bei neugeborenen Säugern

Bei neugeborenen Säugern kann man eine kraftvollere Regeneration beobachten als dies am erwachsenen ZNS der Fall ist. Dies wird auf eine weniger dichte Narbe an der Läsionsstelle zurückgeführt (BERRY u. RICHES 1974, PRENDERGAST u. STELZNER 1976a). Am Rückenmark wurde dies in einer gegenüberstellenden Untersuchung nachgewiesen (PRENDERGAST u. STELZNER 1976b , CLEMENTE in WINDLE 1955).

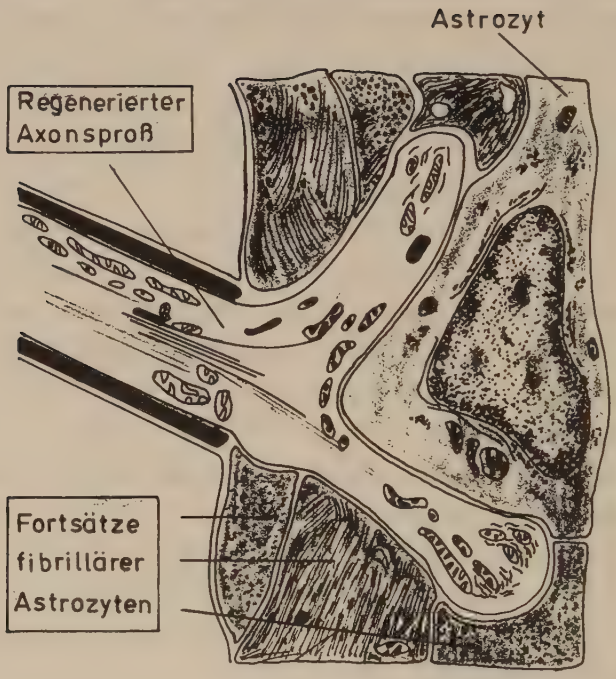
Das intensivere regenerative Aussprossen von zentralen Nervenfasern bei neugeborenen Säugern wird möglicherweise durch einen stärkeren retrograden Zelltod begrenzt. Dies wurde für den Tractus rubrospinalis glaubhaft gemacht (PRENDERGAST u. STELZNER 1976a).

3.1.3. Besonderes Verhalten bestimmter zentraler Fasersysteme in bezug auf die Regeneration

Sowohl die Fasergruppe des hypothalamo-hypophysialen Traktes als auch die zu den Mitralzellen des Bulbus olfactorius ziehenden Fasern regenerieren über die gesamte, vorher bestehende Faserlänge. Die Axonsprosse durchdringen hier das zentrale Narbengewebe (GRAZIADEI u. GRAZIADEI 1978, BERRY u. RICHES 1974, KIERNAN 1971).
Die Axone der Nn. olfactorii sind zwar von Schwannzellen umhüllt, der Bulbus olfactorius stellt jedoch zentrales Nervengewebe dar (LEONHARDT 1974). Nach Durchtrennung der Nn. olfactorii wachsen die neugebildeten Axone in den Bulbus ein und erreichen ihre postsynaptischen Endstellen an den stark verästelten Mitralzellen (GRAZIADEI u. GRAZIADEI 1978).

3.1.4. Die Regeneration am adulten ZNS

Das Auswachsen von Axonsprossen im ZNS nach Durchtrennung der Nervenfasern wurde schon von CAJAL mit der Silberreduktionstechnik dargestellt. Über 2 Wochen hinweg nehmen die Sprossungserscheinungen kontinuierlich zu, gehen aber dann zurück (CAJAL 1928). Das elektronenmikroskopische Korrelat dazu stellt die Kammerung der Axonauftreibungen proximal der Durchtrennung dar (SCHLOTE 1964, LAMPERT u. CRESSMAN 1964) (Schema 1). Eine dritte, schöne Darstellung dieser Wachstumsbäumchen wurde mit der Falck-



Schema 1:
Die Kammerung der Axonauftreibung im Querschnitt entspricht einer Aufsprossung des durchtrennten Axons in kleinere Regenerate. Ein solches zentrales Regenerat zeigt beim Einwachsen in eine astrozytäre Glianarbe obige Bifurkationsbildung (Zeichnung nach einer elektronenmikroskopischen Aufnahme aus LAMPERT und CRESSMAN 1964).

Hillarp'schen histochemischen Fluoreszenztechnik erreicht (BJÖRKLUND et al. 1971) (Schema 2).

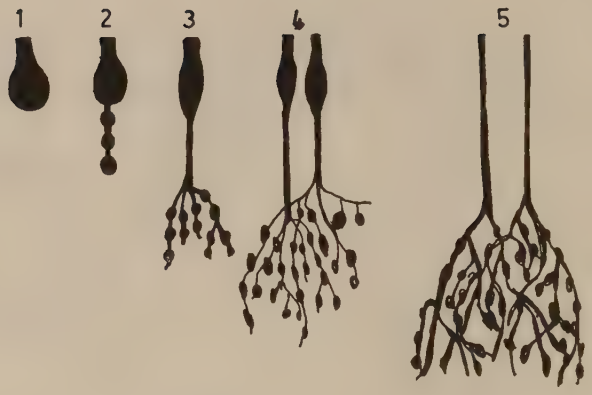
Schon 1924 wurden von SCHOLZ regenerative Prozesse in Form von Remyelinisierungen in gedeckt gliös narbigen Schadensbezirken im ZNS nachgewiesen (HAGER 1966). Beim Auswachsen der zentralen Nervenfaser kommt es zu einer vermehrten Aminosäureaufnahme in die regenerierenden Sprosse als auch zu einer vermehrten Synapsenbildung (BERNSTEIN, WELLS u. BERNSTEIN 1976).

Um nun die Regenerationsfähigkeit zentraler Axone genauer zu untersuchen, wurden vielfach autologe Gewebstransplantate ins ZNS verpflanzt. Als Transplantate dienten z.B. Iris- oder Pfortadergewebe. Sie enthalten keine intakten Nervenfasern. Alle dort nach der Transplantation nachgewiesenen Axone müssen also regenerierte zentrale Axonsprosse sein. Die Methode der Untersuchungen war in einigen Arbeiten fluoreszenz- in anderen Arbeiten elektronenmikroskopisch.

3.1.4.1. Transplantationen von peripherem Gewebe ins ZNS, fluoreszenz- und elektronenmikroskopische Untersuchungen

Vor allem BJÖRKLUNDs fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen zeigen ganz eindeutig, daß ins ZNS transplantiertes Iris- und Pfortadergewebe sowohl von cholinergen als auch von adrenergen Nervenfasern ortsständiger Nervenzellen durchwachsen wird. Es werden in den Transplantaten sogar neue neuromuskuläre Verbindungen hergestellt (BJÖRKLUND 1975, SVENDGAARD, BJÖRKLUND u. STENEVI 1976).

Durch Feldstimulation konnte eine Kontraktion und Relaxation des transplantierten Irismuskels ausgelöst werden (nach BAUMGARTEN u. LACHENMEYER 1977). Die auswachsenden zentralnervösen, adrenergen Sprosse verhielten sich in den Transplantaten so aggressiv, daß sie alle Schichten der dort befindlichen Gefäße durchdran-



Entwicklung und Wachstum neuer Sprosse von durchtrennten monaminergen Axonen im Rückenmark.

Schema 2:
Schematisierte Darstellung regenerierter Axonsprossbäumchen nach BJÖRKLUND et al. 1971 auf Grund fluoreszenzmikroskopischer Beobachtungen. 1 Tag, 2, 5, 10 und 15 Tage nach Axotomie.

gen. Normalerweise endet die nervöse Versorgung von Gefäßen in der Adventitia (BJÖRKLUND u. STENEVI 1971).
Auch elektronenmikroskopisch wurde nach Transplantation einer autologen Ratteniris ins Mittelhirn ein Einwachsen von zentralen Nervenfasern bereits nach einer Woche beobachtet (KATZMAN, BROIDA u. RAINE 1977). Die zentralnervösen Axone werden von den im Transplantat mitübertragenen Schwannzellen umhüllt. Das Kaliber der Fasern war unterschiedlich. Sie lagen myelinisiert und unmyelinisiert vor und bildeten miteinander axo-axonale Synapsen, wie sie auch in der normalen Rattenriris schon nachgewiesen wurden (EHINGER, FALCK u. SPORRONG 1970). Typische synaptische Komplexe konnten nicht beobachtet werden (KATZMAN, BROIDA u. RAINE 1977). Ein weiteres Beispiel für die erfolgreiche Durchdringung eines Transplantates mit zentralen Nervenfasern wurde von KAO, CHANG u. BLOODWORTH (1977) aufgezeigt.
Mit einer speziellen chirurgischen Methode wurden Nervus ischiadicus-Stückchen in Längsorientierung zwischen die Stümpfe einer Rückenmarksdurchtrennung eingesetzt. Es kam zum Auswachsen zentraler Axone in das Transplantat, wobei die dort gebildeten Büngnerschen Bänder als Führungsstrukturen dienten. Einige Fasern sollen sogar in den caudalen Rückenmarksstumpf wieder eingewachsen sein.

3.1.4.2. Regeneration nach mechanischer und chemischer Axotomie zentraler Nervenfasern

Die Untersuchungen wurden ebenfalls zumeist mit der fluoreszenzmikroskopischen Technik durchgeführt. Ein Aussprossen von zentralen Nervenfasern nach mechanisch hergestellter Läsion wurde am Mittelhirn (KATZMAN et al. 1971), im Rückenmark (BJÖRKLUND et al. 1971) und an der motorischen Rinde (BOWEN et al. 1975) dargestellt. In den proximalen Axonstümpfen oberhalb der mechanischen

Läsion kommt es zu einer Fluoreszenzakkumulation, was dem sogenannten "damming up" von Vesikeln entspricht (KATZMAN et al. 1971). Die Axone wachsen in die Läsionszone hinein, nehmen dort einen stark gewundenen Verlauf und scheinen stecken zu bleiben. Außerdem sieht man sie dort entlang von Blutgefäßen wachsen. Noradrenerge Fasern zeigen eine höhere Wachstumspotenz als serotoninerge Fasern. Es kam allerdings nie zu einer vollständigen Durchwachsung der Läsionszone (BJÖRKLUND et al. 1971).

Chemische Läsionen am ZNS können selektiv an serotoninergen Axonen mit 5,6 Dihydroxytryptamin bzw. an noradrenergen Axonen mit 6-Hydroxydopamin erzeugt werden. Alle jeweils anderen Axone bleiben völlig intakt. Die Untersuchungen wurden am Hypothalamus, an der Medulla oblongata und am Rückenmark der Ratte durchgeführt (BJÖRKLUND, NOBIN u. STENEVI 1973, NYGREN, OLSON u. SEIGER 1971).

Es kommt zu vollständigen Axotomien und nicht etwa nur zu Entmarkungen. Innerhalb von ein bis zwei Monaten entsteht eine Regeneration in den distalen Stumpf hinein und sogar eine Wiederherstellung eines normalen Innervationsmusters (NYGREN, OLSON u. SEIGER 1971).

Abschließend kann man sagen, daß die Regenerationskapazität nach selektiver, chemischer Zerstörung dieser nicht-cholinergen zentralen Axone bedeutend größer ist als nach mechanischen Läsionen. Nach pharmakologisch induzierten Axotomien ist also ein gerichtetes Auswachsen zentraler Nervenfasern entlang des früheren Verlaufs möglich (BJÖRKLUND, NOBIN u. STENEVI 1973, NYGREN, OLSON u. SEIGER 1971).

Nachdem die Wachstumsfähigkeit durchtrennter Axone in ihrem Ausmaß dargestellt wurde, soll nun das Phänomen der kollateralen Axonsprossung im ZNS beschrieben werden.

3.2. Die kollaterale Axonsprossung, Plastizität

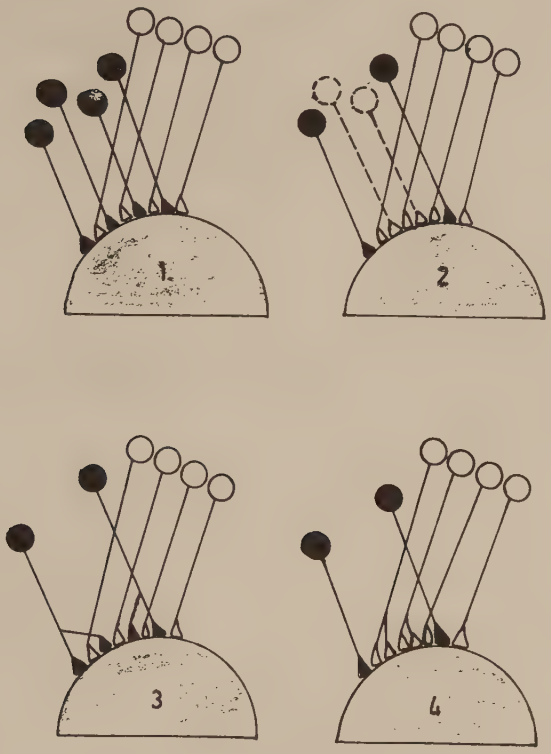
Während des ganzen Lebens kommt es zu einem kontinuierlichen Zelluntergang (ECCLES 1975), benachbarte Nervenfasern beginnen zu sprossen und bilden neue Verknüpfungen. Es werden also permanent neue synaptische Verbindungen in einem Degenerations-Regenerations-Prozeß geknüpft (BAUMGARTEN u. LACHENMEYER 1977). Schon vor 30 Jahren wurde das kollaterale Axonsprossen am peripheren Nervensystem beobachtet (CAUSEY u. HOFFMAN 1955, WEISS u. EDDS 1945). Am Zentralnervensystem wurde dies 1958 durch LIU und CHAMBERS in einer sehr einfachen Versuchsanordnung gezeigt. Das Rückenmark wurde auf einer Seite partiell denerviert mittels Durchtrennung einer Serie von dorsalen Wurzeln. Die Degenerationsprodukte im Hinterstrang werden gesetzmäßig entsprechend der Waller'schen Degeneration abgeräumt. Nach Verstreichen der für diesen Prozeß notwendigen Zeit, wird jetzt zusätzlich auf jeder Rückenmarksseite noch eine Wurzel durchtrennt. Für die Durchtrennung werden zwei sich gegenüberliegende Wurzeln ausgesucht. Einige Tage danach werden repräsentative Querschnitte durchs Rückenmark oberhalb der sich gegenüberliegenden durchtrennten Spinalwurzeln angefertigt. Es erfolgt dann eine spezielle Färbung für degenerierte Axone.

Auf der vorher deafferentierten Seite findet man eine größere Ausdehnung der Anfärbung, d.h. hier müssen Axone Kollateralen gebildet haben, die dann ebenfalls degeneriert sind (LIU u. CHAMBERS 1958). Kollaterale Axonsprossung kann bereits 5 Tage nach einer Läsion im ZNS beobachtet werden (LEE et al. 1977). Setzt man dann in der Umgebung einen zweiten Degenerationsreiz, so kommt es schon nach 2 Tagen zur kollateralen Axonsprossung.

Es läßt sich also eine Akzeleration induzieren (SCHEFF, BERNADO u. COTMAN 1977).

Die kollaterale Regeneration wurde am Rückenmark (KATZMAN et al. 1971), am Nucleus vestibularis lateralis (JOHNSON 1975), am Hippocampus (AZMITIA, BUCHAU u. WILLIAMS 1978), am Cerebellum (PICKEL, KREBS u. BLOOM 1973) und am Nucleus ruber beschrieben. TSUKAHARA konnte am N. ruber den nicht leicht zu erbringenden Nachweis führen, daß die kollateralen Axonsprossen funktionell aktiv sind (TSUKAHARA et al. 1975).
Es lassen sich eine homotypische und eine heterotypische kollaterale Axonsprossung unterscheiden. Homotypisch ist sie dann, wenn ein Fasersystem teilweise zerstört wird, und die intakt gebliebenen Fasern des gleichen Systems aussprossen und neue Synapsen bilden. Die Funktion des Fasersystems bleibt annähernd erhalten, es vergröbert sich lediglich das Raster.
Bei der heterotypischen kollateralen Axonsprossung regenerieren Fasern eines anderen Systems (ECCLES 1976) (Schema 3). Die heterotypische kollaterale Axonregeneration steht im völligen Gegensatz zum hochgeordneten Auswachsen z.B. beim regenerierenden N. opticus von Fischen und Amphibien (RAISMAN 1969).
Es soll dazu noch ein eindrucksvolles und deswegen auch oft zitiertes Experiment von RAISMAN erwähnt werden (RAISMAN u. FIELD 1973, RAISMAN 1978). Ein Kerngebiet im Bereich des Septum pellucidum erhält gleichseitige und gegenseitige Hippocampusfasern. Als dritte Afferenz noch zusätzlich Fasern aus dem Hypothalamus.
Bei Zerstörung der gleichseitigen, vom Hippocampus kommenden Fimbrienfasern werden deren Synapsen im Kerngebiet von reaktiven Astrozyten abgeräumt. Die Astrozyten besetzen daraufhin die postsynaptischen Endstellen solange, bis durch kollaterale Axonsprossung neue Fasern herangewachsen sind. Dies ist nach einem Monat der Fall. Die regenerierten Axone kommen nahezu ausschließlich von den andersseitigen Fimbrienfasern her. Zerstört man darauf diese neugebildeten Axonsprossen wiederum, so wachsen Nervenfaserre-

Homotypische und heterotypische kollaterale Regeneration im ZNS



Schema 3:
1. Insertion zweier verschiedener Afferenzen an einem Perikaryon im ZNS.
2. Teilweise Zerstörung einer Afferenz
3. Homotypische kollaterale Axonsprossung. Sprossbildung aus Axonen der gleichen Afferenz
4. Heterotypische kollaterale Axonsprossung. Sprossbildung aus Axonen der nicht teilzerstörten Afferenz.

Nach ECCLES, 1976

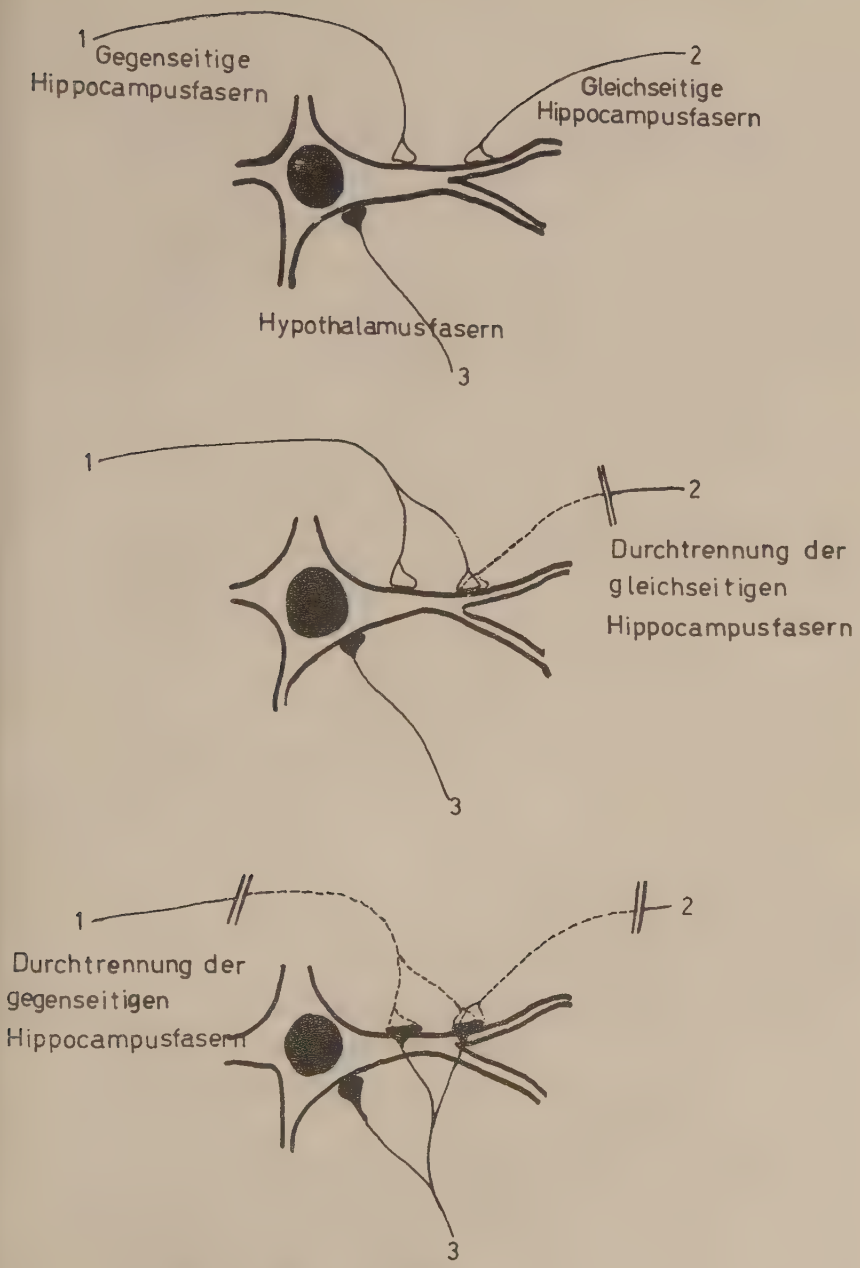
generate aus der 3. Afferenz aus, die vom Hypothalamus in das Kerngebiet einstrahlt. Das erste Auswachsen kann man mit Einschränkung (weil Fasern von der Gegenseite) noch als homotypische kollaterale Axonsprossung, das zweite Auswachsen muß man als heterotypische Axonsprossung bezeichnen (RAISMAN 1978) (Schema 4).
Immerhin liegt auch beim Säuger, dies wird durch das obige Experiment belegt, noch eine begrenzte Spezifität der Synapsenbildung vor.

4. 8 Theorien zur Erklärung der abortiven Regeneration im adulten ZNS von Säugern

Grundsätzlich sei vorausgeschickt, daß die Ursache der im Vergleich zur peripheren Faser unvollständig ablaufenden Regeneration der zentralen Nervenfaser eher in ihrer Umgebung, also im Bereich der Glia zu suchen ist. Dies läßt sich aus der Tatsache entnehmen, daß auch die Perikarya peripherer Axone im ZNS liegen. Was die Lage ihrer Stoffwechselzentren anbetrifft, unterscheiden sich diese Nervenzellen also in keiner Weise von Nervenzellen, deren Axone vollständig im ZNS verlaufen.
Es wäre jedoch denkbar, daß eine bestimmte Population von Neuronen, nämlich diejenigen, die ihre Axone in die Peripherie schicken, die Fähigkeit zur Regeneration nicht verloren haben.

4.1. Die "innere Unfähigkeit" des ZNS-Neurons der Säugetiere, das durchtrennte Axon zu regenerieren

Die Vertreter dieser Hypothese gehen davon aus, daß die regenera-



Schema 4: Eine Durchtrennung der gleichseitigen Hippocampusfasern führt zur Ausprossung gegenseitiger Hippocampusfasern als 1. Reaktion: homotypische Regeneration. Werden zusätzlich die gegenseitigen Hippocampusfasern durchtrennt, kommt es zur Aussprossung aus den Hypothalamusfasern: heterotypische Regeneration. Nach RAISMAN, 1969.

tiven Eigenschaften der zentralen Neurone in der aufsteigenden Reihe der Evolution verlorengegangen sind. Die ZNS-Nervenzellen seien im Säugetiergehirn zu hoch spezialisiert (CLARK 1943).
Die Regeneration bei niederen Vertebraten und bei phylogenetisch primitiven Neuronen im ZNS von Säugern spricht gegen die Gliabarrieren-Theorie, jedoch für die genetisch determinierte Regenerationsunfähigkeit der Nervenfasern im Säugerhirn. Höhere Säuger haben diese Fähigkeit möglicherweise in der Phylogenese verloren.

Nahezu widerlegt wird die genannte Theorie jedoch durch die Tatsache, daß die peripheren Fortsätze der pseudounipolaren, sensiblen Spinalganglienzellen regenerieren, die zentralen Fortsätze nach Durchtrennung im Hinterstrang dies aber nicht können. Beide Zellfortsätze haben ihren Ursprung in der gleichen Zelle, gehen also auf die gleiche genetische Matrize zurück.
Außerdem ist bewiesen, daß zentrale Axone zumindest über kurze Distanzen auswachsen können (LAMPERT u. CRESSMAN 1964, RAISMAN 1978).

4.2. Die undurchdringliche Glianarbe

Die nach Läsionen im Zentralnervensystem entstehende Gliawucherung wurde bereits erwähnt. Von SCHLOTE wurde sie als anisomorphe Fasergliose, von RAISMAN als das "pathway"-Problem des regenerierenden Axons angesprochen (SCHLOTE 1970, RAISMAN 1978). Die meisten Untersucher machen diese gliale Narbenbildung für die abortive Regeneration im ZNS verantwortlich (CLEMENTE in WINDLE 1955, PRENDERGAST u. STELZNER 1976b, NYGREN et al. 1971, KATZMAN et al. 1971, ECCLES 1976, JOHNSON 1975, AGUAYO 1978, RAISMAN 1978, LAMPERT u. CRESSMAN 1964, SCHLOTE 1970).
Bei einer vollständigen Regeneration eines zentralen Axons müßten drei hintereinander ablaufende Vorgänge möglich sein. Die Fähig-

keit zur initalen Axonsprossung, die Elongation, also das Durchdringen der Astrozytentextur, und die Fähigkeit zur Synapsenbildung an den postsynaptischen Zielstellen (RAISMAN 1978). Das Neuropil im ZNS ist sowohl zur initialen Axonsprossung (CAJAL 1928, LAMPERT u. CRESSMAN 1964) als auch zur neuen Synapsenbildung in der Lage (RAISMAN u. FIELD 1973). Als einzig möglicher Hemmfaktor bleibt damit die proliferierende Glia, in der die Elongation der anfänglich regenerierenden Axone zum Stehen kommt (RAISMAN 1978). Die Fasersprosse zweigen sich verstärkt auf (LAMPERT u. CRESSMAN 1964).

Als weiteres Argument für die Bedeutung der Gliabarriere als Hemmstruktur kann aufgeführt werden, daß die Regeneration im ZNS nach chemischer Axotomie sehr viel intensiver ist als nach mechanischer Läsion. Die chemische Zerstörung der Nervenfasern führt eben nicht zu einer bedeutenden Astrozytenwucherung und Zerstörung des vaskulären Systems (NYGREN, OLSON u. SEIGER 1971). Bietet man zentralen Axonen durch Transplantation peripheres Gewebe an, kommt es wahrscheinlich ebenfalls aufgrund der fehlenden Astrozytennarbe zum Eindringen dieser Nervenfasern in die Transplantate (KATZMAN, BROIDA u. RAINE 1977). Gegen die Bedeutung der Gliabarriere spricht, daß regenerierende Axone niederer Vertebraten völlig ungehemmt durch verflochtenste ZNS-Glianarben hindurchwachsen (BERNSTEIN u. BERNSTEIN 1967, WOLBURG 1978).

Astrozyten können auch entgegen der oben postulierten Barrierefunktion als Leitstrukturen über geringe Entfernungen dienen (ECCLES 1976). Außerdem existieren im adulten ZNS Fasersysteme, die trotz Glianarbenbildung regenerieren. Dies gilt für den hypothalamo-hypophysialen Trakt (KIERNAN 1971, BERRY u. RICHES 1974) wie für den Bulbus olfactorius (GRAZIADEI u. GRAZIADEI 1978).

4.3. Die Abwesenheit an Schwannzellen bzw. Schwannzellführungsstrukturen

CAJAL hatte die Beobachtung gemacht, daß ZNS Axone bei Einwachsen in eine Läsionsstelle bereits ihr Wachstum einstellten, bevor sie die Läsionsstelle überwunden hatten. Daraus folgert er, daß Schwannzellen auch für die Regeneration von ZNS Axonen notwendig sind (CAJAL 1928). Dieser Theorie von CAJAL widersprechen jedoch heute zahlreiche Befunde. KIERNAN machte vor kurzem deutlich, daß diese Theorie noch auf dem chemischen Neurotropismus beruht und daß sie bis in neuere Veröffentlichungen unkritisch als gültig übernommen wurde (KIERNAN 1978). Sie ist weder in der Lage die gute Regeneration bei Amphibien noch die Regeneration der besonderen ZNS-Fasersysteme zu erklären. Dies gilt genauso für die Tatsache, daß das Auswachsen nach chemischen Axotomien im ZNS beträchtlich ist (s. S. 16).
Darüberhinaus sind Schwannzellsäulen bekanntlich noch nicht einmal für die Regeneration peripherer Fasern notwendig (vgl. S. 36).

4.4. Die planlose, nicht selektive Synapsenbildung

Von BERNSTEIN und BERNSTEIN wurde eine Theorie zur Erklärrung der abortiven Regeneration im Rückenmark entwickelt. Es kommt dort nach Läsionen zwar zu einem initialen Auswachsen der Axone, dann aber zu einer zu frühen und planlosen Synapsenbildung im 1. Segment oberhalb einer experimentellen Halbseitendurchtrennung des Rückenmarks. Die Untersuchungen wurden an Ratten und Affen durchgeführt (BERNSTEIN, BERNSTEIN u. WELLS 1978, BERNSTEIN, WELLS u. BERNSTEIN 1978). Die Motoneurone im 1. Segment oberhalb der Läsion zeigen eine progressive Bildung von Verästelungen entlang ihrer Dendritenschäfte. Diese Verästelungen wiederum bilden neue axodendritische Synapsen, so daß

die bestehende Regeneration durch voreilige Synapsenbildung bereits oberhalb der Läsionsstelle abgefangen wird. Sie nimmt ihren Ausgang vorallem von Interneuronen (BERNSTEIN u. BERNSTEIN 1977) und zeigt ein zyklisches Reinnervationsmuster.
In der grauen Substanz des Rückenmarks spielt dieser Vorgang sicher eine Rolle. Es ist jedoch unzulässig, die Ursache der Regeneration im Bulbus olfactorius in der Abwesenheit dieser unselektiven Synapsenbildung zu suchen, wie dies von GRAZIADEI und GRAZIADEI (1978) getan wird. Natürlich ist dort ein kollaterales Sprossen bzw. eine zu frühe Synapsenbildung nicht möglich, weil nach Durchtrennung des einzigen dort vorhandenen Fasersystems keine anderen zentralen Fasern zu finden sind. Eine zu frühe Synapsenbildung ist aber auch nicht nach einer experimentellen Läsion der Hinterstränge (SCHLOTE 1964, LAMPERT u. CRESSMAN 1964) bzw. nach einer Chiasmaläsion am N. opticus (LEINFELDER 1938) möglich. Trotzdem ist hier die Regeneration nur abortiv.
Für die planlose Synapsenbildung als Ursache der schlechten Regeneration nach Rückenmarksläsionen spricht, daß Puromycin über eine Verminderung der Synapsenbildung zu einer erhöhten Dichte regenerierter zentraler Fasern in der Läsionszone führt. Puromycin als Proteinsynthesehemmer ist in der Lage, die Bildung der dendritischen Verästelungen oberhalb einer Verletzung über einen Zeitraum von 2 Monaten zu verhindern. Dies führt möglicherweise über eine Verminderung falscher Rezeptoren zu der erwähnten Vermehrung zentraler Fasern (BERNSTEIN, WELLS u. BERNSTEIN 1978b).

4.5. Die Autoimmunhemmung der Regeneration im ZNS

FERINGA macht einen Autoimmunprozeß für die Verhinderung der zentralen axonalen Regeneration verantwortlich (FERINGA et al. 1973).

Bei einer Verletzung des ZNS wird die Blut-Hirn-Schranke durchbrochen, die normalerweise sequestrierten ZNS-Antigene werden freigegeben. Dies entspricht auch dem Konzept der experimentell erzeugbaren allergischen Enzephalomyelitis (RAINE, TRAUGOTT u. STONE 1978).

Dem basischen Protein des Myelins wird die wichtigste antigene Funktion im ZNS zugesprochen (BERRY u. RICHES 1974).

Diese und andere Antigene führen dann zu einer Immunantwort in den lymphoiden Organen, deren Antikörper in der Läsion erscheinen. Sie werden möglicherweise ins Axon aufgenommen, retrograd transportiert und hemmen dann im Perikaryon die Synthese von Strukturproteinen. Dies wiederum könnte die axonale Regeneration hemmen (KIERNAN 1978).

Diese Hypothese könnte erklären, warum bei neonatalen Säugern die Regeneration besser ist. Die Erkennung der eigenen Antigene ist zur Zeit der Geburt noch nicht abgeschlossen. Eine andere geläufige Erklärung für diese Tatsache ist die weniger dichte Gliabarriere (CLEMENTE in WINDLE 1955). Sowohl die größere Regenerationspotenz monaminerger Axone im ZNS (BJÖRKLUND 1975) als auch die Regeneration im hypothalamo-hypophysialen Fasersystem finden durch die vorwiegende Marklosigkeit der Fasern ihre Begründung, denn als wichtigstes Antigen im ZNS wird das "basische Myelinprotein" der Markscheiden angesprochen. Marklose Fasersysteme sollen dann wegen des geringeren Antigengehalts besser regenerieren (BERRY u. RICHES 1974). Die Autoimmunhemmung der zentralen Regeneration wurde jedoch unwahrscheinlich, weil Immunsuppressiva die Regeneration nicht signifikant steigern konnten (FERINGA et al. 1973, FERINGA, JOHNSON u. WENDT 1975). Bei ZNS Verletzungen entstehen vorallem Antikörper gegen einige Glykolipide (PROCHAZKA, VOLTNEROVA u. STEFAN 1971, STEFAN, PROCHAZKA u. VOLTNEROVA 1971) und nicht gegen

basisches Myelinprotein.

Als 3. Argument gegen diese Hypothese läßt sich anführen, daß zentrale Axone nach Einwachsen in periphere Transplantate eben nicht abgestoßen werden, obwohl sie außerhalb der Blut-Hirn-Schranke liegen.

4.6. Die Abwesenheit eines extrazellulären Flüssigkeitsbades im ZNS

Bei dieser Hypothese wird davon ausgegangen, daß Axone nur regenerieren können, wenn sie mit ihren Wachstumssprossen in der Extrazellularsubstanz liegen, in der Blutplasmaproteine enthalten sind. Es erfolgt eine Aufnahme und ein retrograder Transport der Proteine, was letztlich die Regeneration aktiviert.

Die Proteine sind entweder unspezifisch (Albumine, Globuline) und dienen dann vielleicht dem Neuron als ernährende Substrate. Möglicherweise jedoch auch spezifisch, ähnlich dem Nerve growth factor (KIERNAN 1978).

Die von KIERNAN aufgestellte Theorie versucht die unterschiedliche Regenerationskapazität zwischen peripherem und zentralem Nervensystem zu erklären. Im ZNS kommt es nach Läsionen etwa 2 Wochen lang zu regenerativen Sprossungserscheinungen (CAJAL 1928), dies soll nach KIERNAN nur deshalb möglich sein, weil die Blut-Hirn-Schranke 2-3 Wochen lang nach Verletzungen defekt ist.

Aus einer Untersuchung von PERSSON (1976) geht jedoch hervor, daß die Blut-Hirn-Schranke nach einer Läsion am ZNS nur 3 Tage durchbrochen ist.

Bei peripheren Nervenquetschungen kommt es an der Läsionsstelle zwar zu einer vermehrten Extravasion von Proteinen (de la MOTTE u. ALT 1976) die peripheren Axonsprosse haben aber, sobald sie in die Schwannzellsäulen des distalen Stumpfes eingewachsen sind,

auch keinen Kontakt mehr zur Extrazellularflüssigkeit. Trotzdem sind sie auch jetzt noch in der Lage über weite Strecken zu regenerieren.
Die Hypothese von KIERNAN (1978) würde aber immerhin erklären, warum in der Neurohypophyse eine Regeneration der zentralen Nervenfasern möglich ist. Hier existiert nämlich keine Blut-Hirn-Schranke (KOELLA u. SUTIN 1967).
Fische und Amphibien zeigen allerdings eine funktionelle Regeneration, obwohl sie eine intakte Blut-Hirn-Schranke gegenüber proteingebundenen Farbstoffen besitzen (LEE 1971). KIERNAN weist darauf hin, daß bei diesen niederen Vertebraten zu prüfen wäre, ob die Blut-Hirn-Barriere nach Verletzungen möglicherweise länger zerstört bleibt und dadurch eine Regeneration erlaubt (KIERNAN 1978). Nach der Hypothese von KIERNAN ist die Regeneration monaminerger Axone im ZNS und die Regeneration nach Pyrogenapplikation deshalb erfolgreicher, weil es zu einer erhöhten Permeabilität der Gefäße und Extravasion von Proteinen kommt (CLAWSON, HARTMAN u. VERNIER 1966, OSTERHOLM 1974). Sicherlich vermag die neue Hypothese von KIERNAN einige Besonderheiten der Regeneration zentraler Fasern zu erklären, andere Gesichtspunkte bleiben jedoch auch unbeantwortet.

4.7. Die Bildung einer Basalmembran als Barriere

Zentrales Nervengewebe ist wie anderes ektodermales Gewebe immer durch eine Basalmembran vom Bindegewebe getrennt (HAGER 1967).

Bei den von KAO, CHANG u. BLOODWORTH (1977b) durchgeführten Transplantationsexperimenten, bei denen autologe Segmente des Nervus ischiadicus zwischen vorher erzeugte Rückenmarksstümpfe implantiert wurden, zeigten sich auswachsende zentrale Axone. Sie wa-

ren oft vom Transplantat und damit vom peripheren Gewebe nur durch eine Basalmembran getrennt. Es soll noch einmal hervorgehoben werden, daß dort keine Membrana limitans gliae (Aneinanderreihung von Astrozytenfüßchen) zwischen den Axonregeneraten und der Basalmembran zu finden war.

Die hauptsächliche Barrierefunktion messen deshalb KAO, CHANG u. BLOODWORTH (1977b) der glialen Basalmembran zu. Auch HAGER (1966) meint, daß die Basalmembran auf die zentrale axonale Regeneration hemmend wirkt (Schema 5).

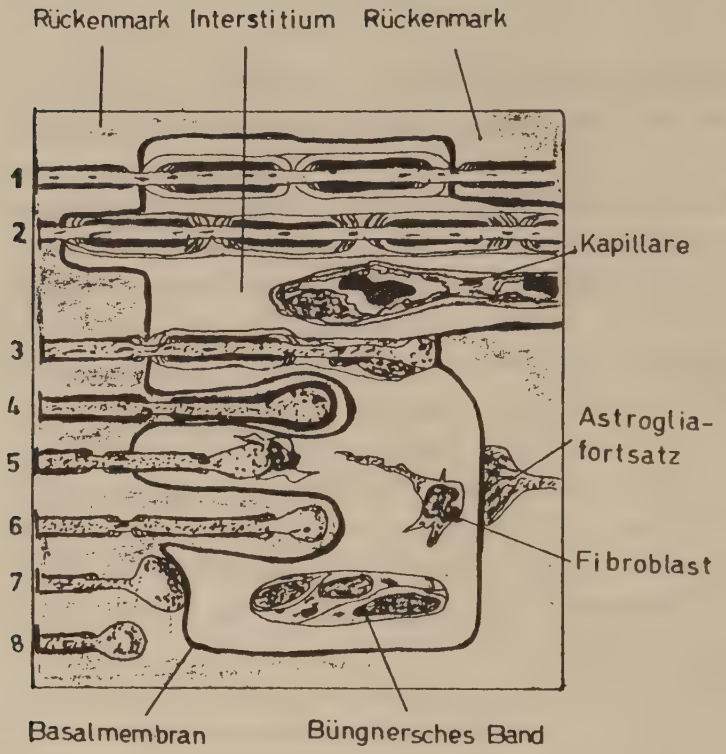
Die zentralen Nervenfasern sind also bis an die Basalmembran herangewachsen, waren jedoch oft nicht in der Lage in das aus peripherem Nervengewebe bestehende Interponat einzuwachsen.

Periphere regenerierende Axone sind allerdings auch immer von einer Basalmembran umgeben und dennoch fähig, über beträchtliche Strecken z.B. auch ins Bindesgwebe zu regenerieren.

Es sei hier kurz auf einen interessanten Befund am peripheren Nervensystem und auf einen prinzipiellen Unterschied zwischen peripherem und zentralem Nervengewebe eingegangen.

Wenn man nach Durchtrennung eines peripheren Nerven die Vermehrung der Schwannzellen im proximalen Stumpf durch Mitomycin hemmt, finden die aussprossenden Axone nicht genügend Hüllzellen vor. Sie sind deshalb nicht in der Lage seitlich auszuwachsen und die Basalmembran vor sich her zu schieben, sondern bleiben innerhalb der Basalmembran des Elternaxons parallel zu diesem liegen (HALL 1978, HALL u. GREGSON 1975).

Der erwähnte prinzipielle Unterschied zwischen PNS und ZNS liegt darin, daß im ZNS die Oligodendrozyten mehrere bemarkte Axone umhüllen, während eine Schwannzelle nur für die Markscheidenbildung eines axonalen Internodiums verantwortlich ist. Die Oligodendrozyten werden distal einer Läsion aufgrund der Waller'schen Degene-



Schema 5:
Modifizierte Zeichnung nach KAO, CHANG u. BLOODWORTH (1977b). Sie beruht auf elektronenmikroskopischen Aufnahmen der Autoren. Zwischen RM-Stümpfen (grau) befindet sich transplantiertes autologes N. ischiadicus Gewebe. Das in der Zeichnung als Interstitium angesprochene Gewebe ist das Interstitium des peripheren Nervengewebes. Es wurden folgende 8 Reaktionen der durchtrennten zentralen Axone beobachtet:
1. Zentrales Axon durchdringt Ischiadicustransplantat und wächst in distalen RM-Stumpf ein, Schwannzellmyelinisierung im Transplantat. 2. Das Axonregenerat setzt seinen Weg im perivaskulären Raum einer Rückenmarkskapillare des distalen Stumpfes fort. 3. Basalmembran verhindert Wiedereintritt ins zentrale Gewebe. 4. Zu frühe Myelinisierung. 5. Fibroblast als Wachstumshindernis. 6. Astrozytengeflecht und Basalmembranbarriere. 7. Basalmembran als alleinige Barriere. 8. Axonauftreibung im proximalen Stumpf.

ration ihrer zugehörigen Axone und aufgrund der Astrozytenwucherung voneinander isoliert und können degenerieren.
Sie liegen zerstreut in einem astrozytären Raum. Deshalb sind sie wahrscheinlich nicht fähig, den auswachsenden Axonen eine ausreichende Umhüllung zu bieten. Diese Umhüllung ist hier aber möglicherweise für die Regenerate genauso notwendig wie im peripheren Nervensystem, um die Basalmembran vor sich her zu schieben.

Daß die Säuger-Oligodendrozyten nur eine geringe Remyelinisierungsfähigkeit besitzen, wurde nach Demyelinisierung am Rückenmark durch Lysolecithin, 6-Aminonicotinamid und Bestrahlung gezeigt (BLAKEMORE 1978, BLAKEMORE 1975, BLAKEMORE u. PATTERSON 1978).
Für die Stabilität des Axons gegenüber Hindernissen scheint also ein Hüllgewebe notwendig zu sein. Diese Stabilität wird im peripheren Nervensystem noch dadurch verbessert, daß die Axone dort zu Bündeln zusammengefaßt werden. Nicht nach allen Zerstörungen am ZNS entsteht eine Basalmembran. Sie bildet sich vorallem nach mechanischen Läsionen im Rahmen einer bindegewebig-gliösen Narbe. In diesem Fall scheint sie eine Rolle für die unvollständige Regeneration im ZNS zu spielen. Nach chemischer Zerstörung der Axone entsteht außer einer geringen Astrozytenwucherung keine Bindegewebsnarbe mit Basalmembran. Dies könnte auch ein Grund für die erfolgreiche Regeneration sein. Über den Einfluß der geringeren Astrozytenwucherung wurde schon berichtet.

4.8. Die durch "Autotomie" entstehende zystische Hohlraumbildung

Zusätzlich zu den gut bekannten auf- und absteigenden Degenerationsprozessen gibt es einen dritten, gesetzmäßig ablaufenden Reaktionsmechanismus des Axons nach seiner Durchtrennung im Zentral-

nervensystem.
Ramon y CAJAL nannte ihn Autotomie, weil Axone in der Lage sind ihre Wachstumskoni und damit sich selbst abzuschnüren, wenn sie beim Auswachsen auf ein mechanisches Hindernis stoßen (CAJAL 1928). Nach einer scharfen Durchtrennung des Axons entstehen nun am proximalen und distalen Stumpf durch Autotomie hervorgerufene Axonauftreibungen nicht direkt an der Läsionsstelle, sondern jeweils 1-2 mm von der Läsionsstelle entfernt (KAO, CHANG u. BLOODWORTH 1977a).

Im Bereich zwischen Axonauftreibungen und Läsionsstelle kommt es zum Myelinzerfall und zur zystischen Axonerweiterung. Schließlich entsteht durch Zusammenfließen ein Hohlraum (CAJAL 1928, KAO 1974, KAO, CHANG u. BLOODWORTH 1977b).
Die von proximal aussprossenden Fasern können möglicherweise diesen Hohlraum nicht überbrücken (KAO, CHANG u. BLOODWORTH 1977b).
Die zystische Hohlraumbildung wird durch eine Astrozyten- bzw. Bindegewebswucherung aufgefüllt. Sie kann für die Regeneration der zentralen Neurone jedoch nur dort eine Rolle spielen, wo es zu einer längeren Zerstörung der strukturellen Kontinuität des zentralnervösen Gewebes gekommen ist (KAO 1974, KAO, CHANG u. BLOODWORTH 1977b).

5. Die zentrale Regeneration stimulierende Substanzen

Bakterielle Pyrogene, Schilddrüsenhormone und Glucocorticoide zeigen eine nachgewiesen regenerationsfördernde Wirkung auf zentrale Nervenfasern. Da es nach Applikation einiger dieser Substanzen sogar zu morphologischen Veränderungen an der Läsionsstelle kommt, lassen sich eventuell Rückschlüsse auf die Gültigkeit der

vorher aufgeführten Hypothesen über die Begrenzung der Regeneration im ZNS ziehen. Man könnte von einer Überprüfung der Hypothesen ex iuvantibus sprechen.

5.1. Bakterielle Pyrogene

Die pyrogene Substanz Piromen scheint die Dichte der Glianarbenbildung zu vermindern (CLEMENTE in WINDLE 1955, GUTH 1975, KIERNAN 1978, BERNSTEIN, WELLS u. BERNSTEIN 1978a, 1978b).

Die Pyrogene wirken möglicherweise über eine Sekretion von endogenem ACTH oder Glucocorticoiden (JENKINS 1968) und erhöhen die Kapillarpermeabilität im ZNS (CLAWSON, HARTMAN u. VERNIER 1966). Dem Piromen wird auch eine Steigerung der Makrophagenaktivität und eine Reduktion der Ödembildung zugeschrieben (BERNSTEIN, WELLS u. BERNSTEIN 1978a). In einer neueren Arbeit wurde der Einfluß dieser Droge auf die gliös-mesenchymale Narbenstruktur am ZNS elektronenmikroskopisch untersucht (von CRAMON 1975). Piromen führt zu einer Vermehrung der Makrophagen und der Mesenchymzellen bei gleichzeitiger Hemmung der Zelldifferenzierung und Verminderung spezifischer Zelleistungen, wie z.B. der Produktion von Kollagenfasern. Die Folge ist eine Auflockerung der Narbenzone mit porösgekammerter Struktur. Die strikte Trennung ektodermaler und mesenchymaler Gewebsstrukturen durch eine kontinuierliche Basalmembrantapete (HAGER 1967), scheint bei mit Piromen behandelten Tieren lokal und für einen begrenzten Zeitraum aufgehoben zu sein. Es kommt weiterhin zur Reduktion des astrozytären Fortsatzbaumes mit spongiöser Umwandlung der peritraumatischen Gewebszone (von CRAMON 1975) und zu einer Verminderung der Produktion von Gliafilamenten innerhalb der reaktiven Astrozyten.

5.2. Glucocorticoide und ACTH

Glucocorticoide sollen ebenfalls eine Verminderung der neuroglialen Verflechtung zur Folge haben ("loosening the neuroglial scar") (BERNSTEIN, WELLS u. BERNSTEIN 1978a).
Möglicherweise kommt es auch zu einer Verschiebung des Verhältnisses von Astrozyten zu Oligodendrozyten zugunsten der Oligodendrozyten (BUNGE, BUNGE u. RIS 1961).
Weiterhin wird vermehrt lose organisiertes Bindegewebe an der Läsionsstelle gebildet. Dies scheint die Regeneration zu begünstigen (FERTIG, KIERNAN u. SEYAN 1971). Es liegt jedoch auch ein Bericht vor, der zumindest dem ACTH eine Veränderung der Gliareaktion abspricht (FLINT u. BERRY 1973), allerdings nicht die stimulierende Wirkung auf die Regeneration.
Im Gegensatz zu dem bisher Gesagten führen Glucocorticoide in der Gewebekultur zu einer Erhöhung der Zelladhäsivität, Filamententwicklung und Zytoplasmavermehrung bei Gliazellen (BERLINER, BENETT u. de VELLIS 1978).

5.3. Schilddrüsenhormone

T_3 und T_4 erhöhen den Nervenzellstoffwechsel und verstärken auf diese Weise die Regeneration zentraler Nervenfasern (FLINT u. BERRY 1973).

5.4. Lytische Enzyme

Über die positive Wirkung der drei vorgenannten Stoffgruppen besteht Einigkeit, dies gilt jedoch nicht für die lytischen Enzyme. 1973/74 glaubten MATINIAN und ANDRESIAN nach Rückenmarksdurchtrennungen mit Hilfe von Enzymgaben eine funktionelle und strukturelle Regeneration am Rückenmark erreicht zu haben (MATINIAN u. WINDLE 1974). Dies wurde deshalb 1978 mit den

gleichen Enzymen, nämlich Trypsin, Hyaluronidase und Elastase überprüft. Danach konnte der oben aufgeführte Erfolg nicht bestätigt werden. Es zeigte sich kein Unterschied zwischen Läsionen ohne und mit Enzymgabe (KNOWLES u. BERRY 1978).

6. Die Regenerationsbedingungen der peripheren Nervenfaser

Nach der Durchtrennung eines peripheren Nervs kommt es distal davon gesetzmäßig zur Waller'schen Degeneration. Es entwickeln sich Hanken-Büngner'sche Bänder, also Schwannzell-Säulen, umgeben von einer Basalmembran. Diese Säulen wirken für die auswachsenden Nervenfasern als mechanische Führungskanäle. Sowohl von proximal der Läsion als auch von distal der Läsion kommt es zum Auswachsen von Schwannzellen. Sie treffen sich in der Läsionszone, eine Verbindung zwischen den Stümpfen ist hergestellt (THOMAS 1966). Danach erlöscht die proliferative Aktivität der Schwannzellen (HALL 1978). Ein weiteres Auswachsen von Schwannzellen in den distalen Stumpf zusammen mit den regenerierenden Nervenfasern erfolgt also nicht (AGUAYO et al. 1976, ROMINE, AGUAYO u. BRAY 1975).

Die Abräumung des Myelins im Zusammenhang mit der Waller'schen Degeneration erfolgt durch Schwannzellen, Makrophagen und möglicherweise Fibroblasten und ist nach 7 Wochen nahezu komplett (WEINBERG u. SPENCER 1978). Kommt es nicht zur Reinnervation des distalen Stumpfes, so schrumpfen die Schwannsäulen, die Zahl der Schwannzellen nimmt bedeutend ab. Nach ungefähr einem Jahr stellt der Nerv morphologisch hauptsächlich eine Netzstruktur von Perineuriumzellen dar (WEINBERG u. SPENCER 1978). Bei Reinnervation geht die Induktion der Markscheidenbildung vom Axon aus, möglicherweise von Oberflächenmarkern. Dies konnte nachgewiesen

werden durch Anastomosierung eines proximalen bemarkten Nervenstumpfs mit einem distalen unbemarkten Nervenstumpf. Die in den vorher unbemarkten Stumpf einwachsenden Axone wurden mit einer dicken Myelinscheide umhüllt (SPENCER u. WEINBERG 1978, AGUAYO et al. 1976).
AGUAYO spricht von der Multipotenz der Schwannzellen. Die Multipotenz der Schwannzellen geht sogar soweit, daß menschliche Schwannzellen aus einer Suralisbiopsie von einem Patienten mit metachromatischer Leukodystrophie unter Immunsuppression Mäuseaxone umhüllen können. Nach Aufhebung der Immunsuppression werden die transplantierten Schwannzellen abgestoßen (AGUAYO et al. 1977).

7. Das Auswachsen peripherer Nervenfasern ins Bindegewebe bei Abwesenheit von Schwannzellsäulen

Bei der Regeneration der Nervenfasern ins Bindegewebe, nehmen die Axonsprosse ihre Schwannzellen mit. Weil dies sowohl bei der Neurombildung (LANE, BORA u. PLEASURE 1978) als auch bei der Durchwachsung von homologen peripheren Nerventransplantaten nach Abstoßung der transplantierten Schwannzellen der Fall ist, nannte HILLER dieses Phänomen "Neuromatöse Neurotisation" (HILLER 1951). Es kommt zu einer verstärkten Auffaserung der Faszikel in kleinere, oft marklose Minifaszikel (POLLARD u. FITZPATRICK 1973, SCHRÖDER u. SEIFFERT 1970). Dies wird auch als heteromorphe Neurotisation der isomorphen Neurotisation bei erhaltenen Büngnerschen Bändern gegenübergestellt (HILLER 1951).

8. Das Perineurium

Die Nervenfaszikel im peripheren Nerv werden nicht nur von einfachem Bindegewebe bzw. Kollagen umgeben, sondern auch von spezialisierten Perineuriumzellen. In 4-5 Lamellen umhüllen sie einen Faszikel, überlappen sich und sind miteinander durch "tight junctions" verknüpft (THOMAS u. JONES 1967, GAMBLE u. BREATHNACH 1965, OLSSON u. KRISTENSSON 1973).

III. Eigene Untersuchungen - Methodik

1. Untersuchungsobjekt

Die hier vorliegenden Befunde wurden an insgesamt 32 erwachsenen, weiblichen und männlichen Ratten des Wistarstammes erhoben. Die Ratten hatten durchschnittlich ein Körpergewicht von 200-300 g. Dies ist für das Anastomosierungsexperiment zwischen Nervus facialis-Ast und N. opticus von Bedeutung. Bei Ratten mit einem Körpergewicht unter 200 g ist eine Anastomosierung wegen zu geringer Facialislänge nicht möglich. Für die Transplantation des Opticussegments ist das Gewicht unbedeutend. Die Tiere stammten zum größten Teil aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Tübingen, ein Teil auch aus dem Pathologischen Institut. Gefüttert wurden die Tiere mit Altromin Fertignahrung (Firma Altrogge, Lage/Lippe) und Wasser.

2. Operationen

2.1. Operationsmaterial und Nakrose

Als Operationsmikroskop wurde der Typ U 7 der Firma Carl Zeiss, Oberkochen, verwandt. Die Vergrößerungen betrugen 6-16 fach. Die Durchführung der Operationen erfolgte in Äthernarkose. Die Narkose wurde ohne Tropfgerät mit äthergetränkten Tupfern ausgeführt. Eine andere Möglichkeit ist die intraperitoneale Gabe von 3-5 mg/100 g KG Nembutal^{R} dicht lateral vom Umbilicus der Tiere. Die Narkose tritt hier innerhalb von 10-15 Minuten ein und hält etwa 45 Minuten vor. Sie wurde bei einigen Tieren durchgeführt, hat sich aber wegen ihrer geringen Steuerbarkeit schlechter bewährt als die Äthernarkose.

Als Instrumente wurden 2 gebogene Mosquito-Gefäßklemmen mit Zähnen, eine kleine Ringschere, eine besonders feine mikrochirurgische Pinzettenschere, ein mikrochirurgischer, federnder Nadelhalter und mehrere feinste anatomische und chirurgische Pinzetten verwandt.

Für die feinen Nähte am Nerven waren atraumatische, doppelt armierte Nadeln der Firma Ethicon, Norderstedt (Perma Hand^{R} Seide, 6-0, 0,7 metric) notwendig. Wundnähte wurden mit normalem Nahtmaterial versorgt. Zusätzlich wurde ein aus Silberdraht gebogener Abstandshalter hergestellt.

2.2. Die Transplantation eines Nervus opticus-Segments zwischen Nervus ischiadicus Stümpfe (Experiment I)

Ein halbkreisförmiger Hautschnitt wird bei der Ratte 0,5 cm temporodorsal des rechten Auges gelegt. Der Schnitt darf nicht zu nahe am Auge liegen, da sonst ein Einschnitt in den Konjunktivalsack erfolgt. Liegt er zuweit dorsal, ist die Gefahr einer intensiven Blutung grösser. Außerdem schneidet man in die Muskulatur und erreicht nicht die Sklerahinterfläche. Der obere Teil des Bulbus wird freigelegt, dann erfolgt sukzessiv die Durchtrennung der Augenmuskeln mit der Pinzettenschere. Auch seitlich werden jetzt immer weiter die bindegewebigen Verbindungen und die Ciliargefäße durchtrennt.

Eigenen histologischen Voruntersuchungen kann man im übrigen entnehmen, daß der Bulbus der Ratte von allen Verbindungen außer mit dem N. opticus freipräpariert werden kann, ohne daß Durchblutungsschäden am Sehnerv bzw. an seinen Perikarya in der Retina entstehen.

Dies ist auch nach 2 Monaten postoperativ noch der Fall, gilt jedoch nicht unbedingt für andere Tierarten.

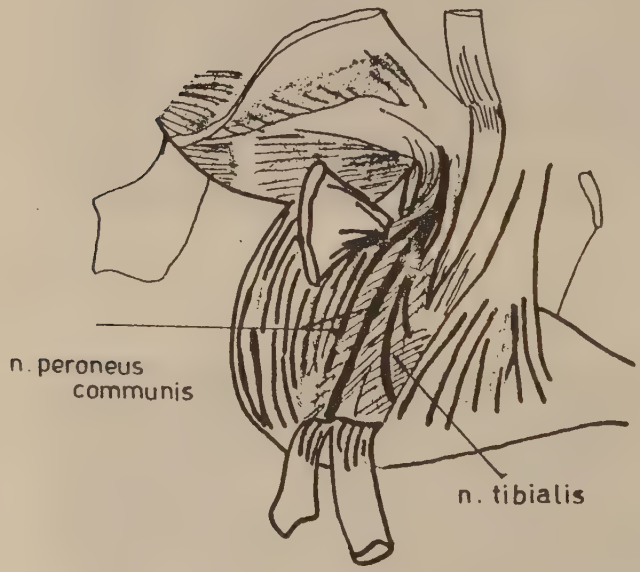
Nach Freilegung des Opticusansatzes an der Sklera werden Teile

der medialen und lateralen Trünendrüse entfernt und der N. opticus in die Tiefe der Orbita hinein freipräpariert. Dies ist jedoch nur etwa 5 mm weit möglich. Bei zu tiefer Präparation kommt es zu einer sehr starken, arteriellen Blutung. Für diese Präparationen ist die 6 fache Vergrößerung im OP-Mikroskop zu verwenden und bis auf wenige Arbeitsschritte auch ausreichend. Nun wird der Abstandshalter retrobulbär eingesetzt. Dadurch wird es möglich, feinste Präparationen am Sehnerv beidhändig durchzuführen. Der Bulbus muß nicht nach vorne weggehalten werden, was übrigens auch nicht durch eine festliegende Klemme möglich ist, da der Augapfel aufgrund der gelösten Verbindungen zum Retrobulbärraum unweigerlich wegrollt (Abb. 1).
Die klaffende Wunde wird adaptiert, der Hautschnitt vorläufig zugeklemmt.
Man wendet sich nun der Freipräparation des N. ischiadicus zu. Es wird im Abstand von 1 cm zum Beckenkamm ein etwa 2,5 cm langer Hautschnitt am rechten Oberschenkel der Ratte durchgeführt. Die Schnittführung erfolgt in Längsrichtung zur Extremität. Es wird die Muskulatur durchtrennt und die Wunde mit 2 Klemmen gespreizt. Man sieht jetzt den Nervus ischiadicus, er wird von seinem Hüllbindegewebe befreit. Dann werden die beiden noch zusammenlaufenden Nervenfaszikel, die sich später als N. peroneus communis und N. tibialis trennen, freipräpariert. Ein Faszikel wird vom Epineurium befreit und aus der Hülle ein ca. 0,5 cm langes Nervensegment herausgeschnitten (Schema 6).
Der N. opticus wird nun retrobulbär ebenfalls im Abstand von 0,5 cm zweimal durchtrennt, das dazwischenliegende Teilstück von seiner Dura befreit und an den durchtrennten N. ischiadicus-Faszikel verpflanzt. Nach der Transplantation wird das Epineurium des N. ischiadicus mit 3 Stichen des atraumatischen Nahtmaterials

Abb. 1: Sehnerv (➡) in situ nach Eröffnung des Retrobulbärraumes. Aus Silberdraht gebogener Abstandshalter zwischen Bulbus (*) und retrobulbärem Orbitagewebe. Tränendrüse (⬠).

Abb. 2: Sehnerventransplantat ohne Dura am N. ischiadicus. Proximaler Stumpf (p) und distaler Stumpf (d) eines der beiden N. ischiadicus Faszikel in Kontakt zum Transplantat. Der andere Faszikel (rechts) bleibt unverletzt. Epineurium des linken Faszikels zur Seite weggehalten.

Schema 6:
Darstellung der Aufzweigungen des N. ischiadicus der Ratte nach Präparation der bedeckenden Muskulatur. Aus GREENE, 1968.



Äste des linken N. ischiadicus der Ratte.

über dem Transplantat vernäht. Eine End-zu-End-Naht konnte nicht erfolgen, da der N. opticus nur einen Durchmesser von 0,5 mm hat. Die Wunde wird über dem N. ischiadicus in 2 Schichten verschlossen. Muskulatur und Haut werden getrennt vernäht. Die Wunde am Auge wird ebenfalls verschlossen.

2.2.1. Die Transplantation einer in situ entstandenen Glianarbe, Prädegeneration

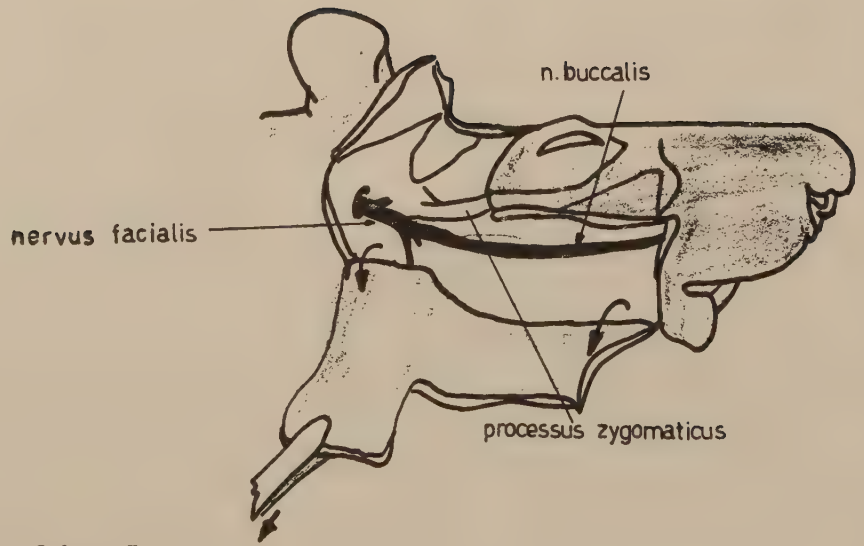
Bei einigen Ratten wurde die Transplantationsoperation zweiphasig durchgeführt. Zum ersten Termin wurde nur der N. opticus freigelegt und direkt retrobulbär gequetscht. Nach 4 Wochen wurde erneut eröffnet und ein 5 mm langes Opticussegment zum N. ischiadicus transplantiert. Man erreicht damit eine bereits zum Transplantationstermin vorhandene Degeneration des Sehnerv, es liegt also schon eine nahezu vollständige Glianarbe vor.

2.2.2. Opticustransplantate mit Durahülle

In Vorversuchen wurde der N. opticus mit Dura transplantiert. Es kam in allen Fällen zu einer Koagulationsnekrose. Die Dura scheint als Diffusionsbarriere zu wirken.

2.3. Die N. opticus - N. facialis Anastomosierung (Experiment II)

Auf der rechten Schädelseite der Ratte wird ein winkelförmiger Hautschnitt gelegt (Schema 7). Die Haut wird abpräpariert und der N. buccalis, ein N. facialis-Ast, der oberflächlich in der Faszienabdeckung der Muskulatur zu finden ist, wird mobilisiert. Da er noch dünner ist als der N. opticus muß man bei seiner Freilegung sehr sorgfältig arbeiten.



Schema 7:
Zeichnung in Anlehnung an "anatomy of the rat", GREENE 1968.

Rechter N. facialis der Ratte. Darstellung nach L-förmigem Hautschnitt. Abpräparation der Haut. Freilegung aus der Faszienabdeckung der Muskulatur.

Dann wird wie bereits oben erwähnt der Sehnerv dargestellt und der Processus zygomaticus untertunnelt. Der Bulbus wird zirkulär, man schneidet immer an der Ora serrata entlang, in zwei Halbschalen geteilt. Darauf erfolgt ein Radialschnitt von 12 Uhr der Ora serrata bis zum Ansatz des Sehnerv. Der N. opticus wird etwa 2 mm weit chiasmawärts halbiert unter Schonung der Dura auf der Unterseite. Dieses 2 mm lange Opticussegment wird dann ohne Durahülle ganz entfernt. Der Sehnerv rutscht durch Zug, da vom Bulbus gelöst, in seiner Durahülle chiasmawärts etwas weg. Es stellt sich nun eine zum Bulbus hin leere Durahülle dar, in die der N. buccalis eingestülpt wird (Abb. 3-5). Er wird nicht mit Nähten fixiert. Dieser Facialisast muß zuvor soweit distal wie möglich durchschnitten und unter dem Proc. zygomaticus durchgeführt werden. Die nach unten aufgeklappt liegende Sklera wird über dem N. buccalis mit einer Naht zusammengefaßt. Als letztes wird die Wunde wieder verschlossen.

2.3.1. Klebung der Opticus-Facialis-Anastomose mit Histoacryl

Es wurden in Vorversuchen zur Herstellung der Anastomose kleine Klebepunkte mit Histoacryl^{R} gesetzt. Die Fremdkörperreaktion um diese Klebestellen war jedoch so groß, daß ein gerichtetes Auswachsen der peripheren Nervenfasern verhindert wurde. Daraufhin wurde die Anwendung dieser Methode eingestellt.

3. Die histologischen Untersuchungszeiten

Das Verhalten der regenerierenden peripheren Nervenfasern und des zentralen Gewebes wurde bei den Transplantationsexperimenten jeweils licht- und elektronenmikroskopisch nach 3 und 5 Tagen, nach 1, 2 und 4 Wochen, nach 1,5 und 3 Monaten untersucht.

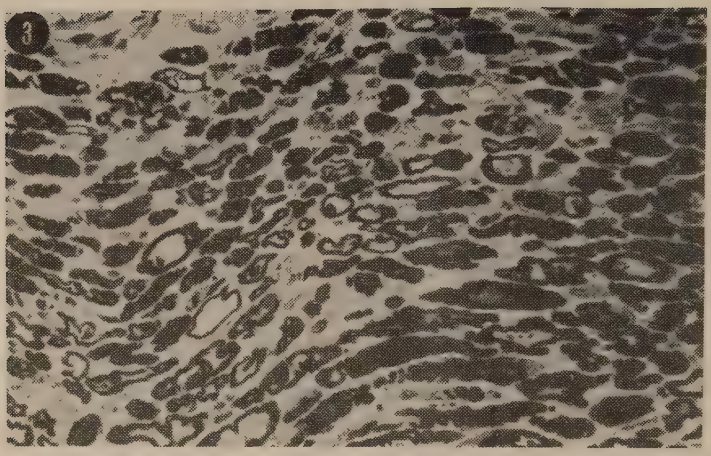


Abb. 3: Schrägschnitt durch N. facialis-Ast proximal der Anastomosierungsstelle. Nahezu intakter peripherer Nerv. Retrograde Degeneration einiger Fasern. 260 : 1.

Abb. 4: Anastomosierung eines N. facialis-Astes (N. buccalis) mit dem N. opticus. Der periphere Nerv verläuft von links oben nach rechts unten. ➞ Anastomosierungsstelle **S** nach unten aufgeklappte Sklera. 12 : 1.

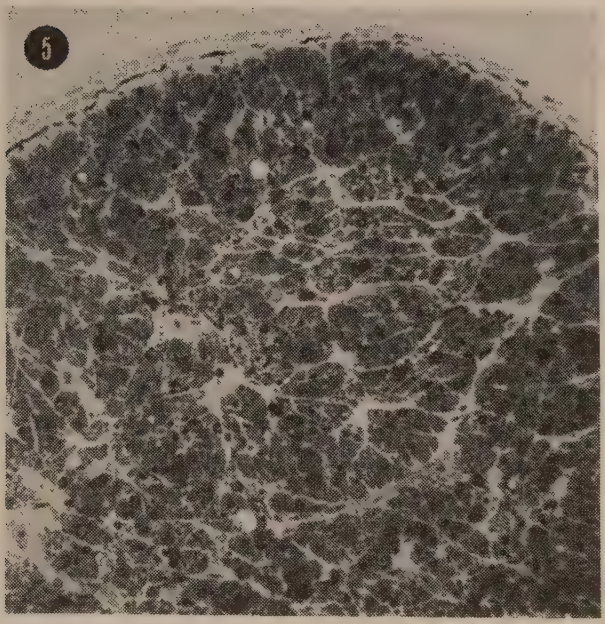


Abb. 5: Querschnitt durch N. opticus 3 Wochen nach der Anastomosierung (siehe Pfeil in Operationsaufnahme) mit dem N. facialis. Degenerierende Opticusfasern, Gliagerüstwerk. 120 : 1.

Bei den Anastomosierungsexperimenten wurden die Präparate nach 3 Wochen und 3 Monaten angefertigt.

4. Die Behandlung des Gewebes bis zum fertigen Präparat

4.1. Fixierung und Nachfixierung

Das Gewebe wird in 4%igem phosphatgepuffertem Paraformaldehyd fixiert. Darauf erfolgt die Nachfixierung in 1%iger Osmiumtetroxidlösung, gepuffert mit 0,1 m Cacodylat bei pH 7,4 (Herstellung der Osmiumlösung: 1 Ampulle 0,25 g Osmiumtetroxid wird in 12,5 cm^3 Aqua bidest. gelöst. Dieser 2%igen OsO_4-Lösung ist dann erst kurz vor der Fixierung 0,1 m Cacodylatpuffer pH 7,4 zuzusetzen, so daß eine 1%ige OsO_4-Lösung entsteht. Herstellung des Cacodylatpuffers: 21,4 g Na-Cacodylat auf 1 l Aqua dest. mit 0,1 n HCl auf pH 7,4 einstellen).
Die Osmiumtetroxidlösung führt zu einer Gewebeschwärzung, dabei wird das organische Material oxidiert und das Tetroxid zu OsO_2 reduziert. Dies führt zur Gewebehärtung ohne beträchtliche Schrumpfung des Gewebes. Dieser Prozess benötigt 2 Stunden, danach soll das Osmiumtetroxid 2 mal in Cacodylatpuffer mit Saccharose ausgewaschen werden.

4.2. Der Einbettungsvorgang in Araldit

Zuerst wird das Gewebe entwässert über eine aufsteigende Alkoholreihe jeweils etwa 15 Minuten lang pro Arbeitsgang (50%, 70%, 96%, 100%iger Alkohol). Zur Verbesserung der Diffusion werden die Arbeitsvorgänge in einem Orbital-Schüttelapparat durchgeführt. Nach dem 100%igen Alkohol kommt das Gewebe zweimal 10 Minuten lang in ein Propylenoxidbad. Eine Unterbrechung des Arbeitsganges ist

nur im 70%igen Alkohol möglich. Die Gewebeblöckchen können über Nacht im Kühlschrank aufbewahrt werden.

Im 70%igen Alkohol ist auch eine Blockkontrastierung mit Uranylacetat möglich, die jedoch hier nicht durchgeführt wurde. Es wird nun ein Gemisch aus 1 Teil Araldit und 1 Teil Propylenoxid hergestellt und das Gewebe für 30 Minuten mit der Araldit verdünnung in Kontakt gebracht und geschüttelt. Danach wird die Viskosität erhöht, das Gewebe mit einer 3 : 1 Araldit/Propylenoxidmischung 1 Std. lang im Wärmeschrank bei 50°C offen imprägniert. Die Dauer dieses Arbeitsschrittes sollte 2 Std. auf keinen Fall überschreiten, da sonst mit einem vorzeitigen Festwerden des Araldits gerechnet werden muß.

Anschließend werden die Gewebsstückchen in mit reinem Araldit gefüllten Einbettungsformen, je nach beabsichtigter Schnittrichtung in Längs- oder Querorientierung, übertragen. Dazu benützt man am besten ein kleines Holzstäbchen. Danach sollen die Formen 12 Stunden bei Zimmertemperatur offen stehen, um die noch aufsteigenden Luftblasen nicht einzuhärten, dann erfolgt die Polymerisation 24 Std. bei 60°C und 24 Std. bei 90°C im Brutschrank. Zur Verhinderung des Absinkens der Gewebeblöckchen bis auf den Boden der Einbettungsformen kann man eine dünne Vorfüllung dieser Formen vornehmen. Die Formen werden dazu etwa 2 Std. vor der Einbringung des Gewebes bis zu einem Drittel ihrer Gesamthöhe mit Araldit gefüllt und dann bei 90°C im Brutschrank aufbewahrt. Erst dann überträgt man das Gewebe und füllt die Formen jetzt mit Araldit ganz auf. Dies erleichtert später das Schneiden beträchtlich.

Man kann an allen vier Seiten des Araldit blockes scharfe Trimmkanten herstellen, die vor allem für das Ultradünnschneiden von Bedeutung sind.

4.3. Das Zuspitzen der Araldítblöcke (Trimmen)

Zuerst werden die Araldit-Quader unter Schräglicht auf eine 2 x 2 mm bzw. 2 x 1 mm große Fläche zugespitzt. Bei Schräglicht können die Gewebsstrukturen besser erkannt werden.
Für das Zutrimmen ist eine scharfe, ungebrauchte Rasierklinge zu verwenden, die Fläche kann entsprechend dem Untersuchungsmaterial variiert werden.

4.4. Herstellung der Semidünnschnitte

Sowohl Semi- als auch Ultradünnschnitte werden an einem Ultramikrotom von LKB, dem Ultrotom III hergestellt. Die Messer wurden aus schwedischem Spezialglas gebrochen. Das in Stangen gelieferte Glas wird dazu in einem LKB Knife Maker eingespannt.
Vor dem Schneiden ist noch eine Beurteilung der Schnittfläche notwendig, dies ist im Ultrotom III bei größter binokularer Vergrößerung und fokaler Beleuchtung der Schnittfläche möglich. Es wurden 0,3 - 0,5 um dicke, unter Xyloldämpfen im Messertrog gestreckte Semidünnschnitte hergestellt und für die Färbung auf einen Objektträger übertragen. Es erfolgt Lufttrocknung zunächst bei Zimmertemperatur, dann 2-3 Stunden lang Trocknung im Wärmeschrank bei 90°C.

4.5. Semidünnschneiden in mehreren Ebenen

Zur Beurteilung der Regeneration der Nervenfasern war es oft wichtig, das gleiche Gewebe in mehreren Ebenen schneiden zu können. Dies konnte auf eine einfache Weise lediglich durch Veränderung der Trimmtechnik erreicht werden.
Die von McCULLOCH (1965) beschriebene Methode einer 3-dimensionalen Ultramikrotomie ist nur mit einer aufwendigen Umrüstung des Porter-Blum-Mikrotoms möglich.

Es wurde daher wie folgt vorgegangen: Das Gewebe muß in seiner längsten Ausdehnung quer im Araldit block orientiert werden. Mit einer scharfen Rasierklinge wird dann der Araldit block, zuvor in einer LKB-Halterung gut befestigt, Stufe für Stufe zugetrimmt. Der genaue Arbeitsgang ist aus der Illustrierung ersichtlich. Die Stabilität des getrimmten Blocks bleibt ausreichend (Schema 8).

4.6. Färbung der Semidünnschnitte

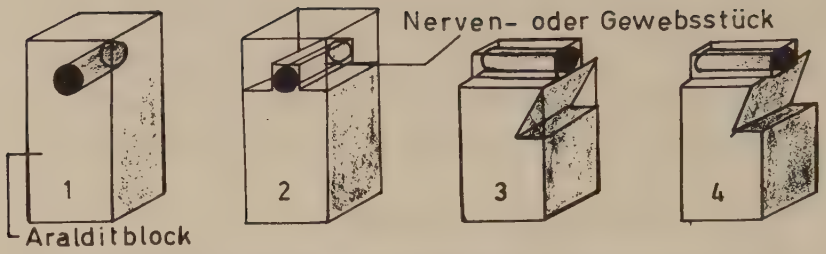
Die Objektträger werden 1-2 Minuten lang in 0,5%iger Toluidinblaulösung (in 2,5%igem $NaHCO_3$ gelöst) bei 70°C gefärbt. Danach erfolgt zweimaliges Eintauchen in Aqua dest. und Abspülen der überschüssigen Farbe (Differenzierung). Die gefärbten Schnitte sollen bei 37°C getrocknet werden. Sie werden schließlich in Toluol eingetaucht und in Caedax eingedeckt.

Zur Verlaufsbeurteilung des Schneidevorgangs kann auch eine Schnellfärbung auf der Heizplatte durchgeführt werden. Die Temperatur sollte dabei nicht zu hoch gewählt werden, weil sonst Falten in den Semidünnschnitten entstehen. Ein Strecken der Schnitte mit Xylol vor dem Trocknen ist hier unnötig. Die Oberflächenspannung des Wassertropfens, in dem die Araldit schnitte auf dem Objektträger schwimmen, wird bei Aufbringen auf die Heizplatte so groß, daß eine maximale Streckung der Schnitte gewährleistet ist. Nach dem Trokkenvorgang werden die Präparate mit einigen Toluidinblautropfen bedeckt. Die Färbung erfolgt bei ca. 60-70°C solange, bis ein breiter, goldener Rand um die Farblösung entstanden ist.

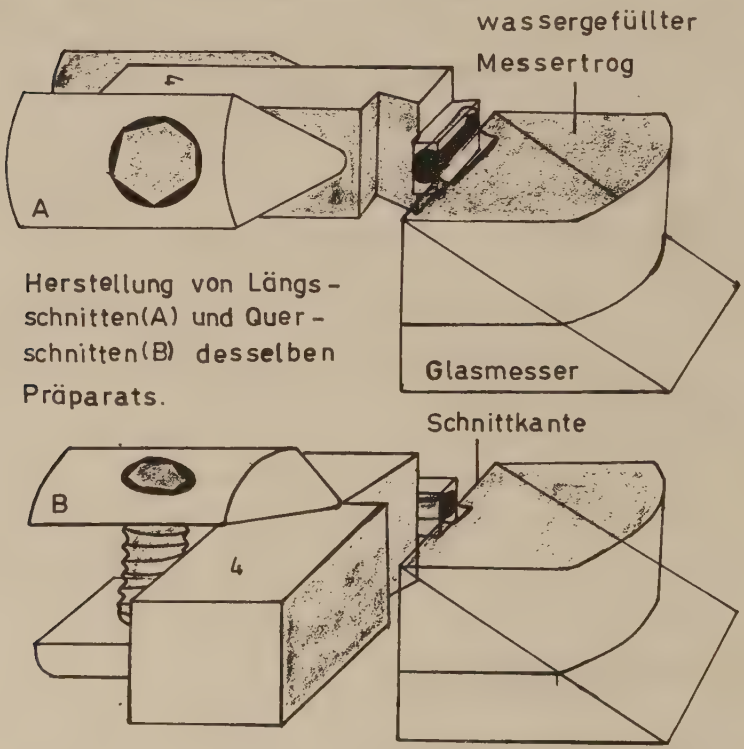
4.7. Herstellung der Ultradünnschnitte

4.7.1. Das Nachtrimmen

Für die Herstellung von Ultradünnschnitten muß die Schnittfläche des Präparateblocks reduziert werden. Dies wird wieder unter



Schema 8a: Stufenweises Zutrimmen des Araldit blocks (1-4) unter Schräglicht.



Schema 8b: Schneiden des getrimmten Araldit blocks in 2 Ebenen.

Schrägbeleuchtung mit einer neuen Rasierklinge durchgeführt. Die Fläche ist auf 1 x 1 mm zu vermindern. Bei größerer Erfahrung mit Ultradünnschnitten können auch Flächen größeren Ausmaßes geschnitten werden. Es ist auf unbeschädigte, scharfe Kanten am Block zu achten, weil dies für die Qualität der Ultradünnschnitte von entscheidender Bedeutung ist.

4.7.2. Das Schneiden

Die Ultradünnschnitte wurden mit thermischem Vorschub geschnitten. Die Schnittgeschwindigkeit ist am Ultrotome III von der Einstellung 2 auf 0,5 zu reduzieren. Die einzustellende Schnittdicke sollte 400 - 700 Å betragen. Die dann tatsächlich erreichte Schnittdicke ist je nach den Interferenzfarben (die im Lichtreflex gesehenen Farben der auf der Wasseroberfläche des Messertroges schwimmenden Schnitte) der Ultradünnschnitte zu beurteilen (unter 500 Å grau, 500 - 800 Å silber, über 800 Å gold). Die Schnitte können mit einem feinen Wimpernhaar im Messertrog manipuliert werden. Das Wimpernhaar wurde dafür an der Spitze eines Holzstäbchens festgeklebt. Es erfolgt die Übertragung der Schnitte auf Kupfernetze VECO, Typ 100 und Typ 75. Die Kupfernetze wurden zuvor mit einer 0,3%-igen Formvarlösung in Dioxan mit einer hauchdünnen Formvarfolie überzogen.

4.7.3. Das Nachkontrastieren der Ultradünnschnitte

Die Nachkontrastierung erfolgt in 2 Schritten.

4.7.3.1. Uranylacetatkontrastierung

Die Netze werden 45 Minuten lang auf Uranylacetattropfen gelegt (0,5 g Uranylacetat in einer Mischung von 5 ml Aqua dest. und 5 ml 100%igem unvergälltem Äthylalkohol). Die Uranylacetatlösung ist ge-

sättigt und sollte deshalb auf keinen Fall vor Benutzung bewegt werden, damit ein Aufschütteln der Kristalle vermieden wird. Die Kontrastierung auf den Uranylacetattropfen sollte unbedingt unter Abschluß des Tageslichts geschehen. Es besteht ebenfalls die Gefahr der Auskristallisierung.

4.7.3.2. Bleicitratkontrastierung

Die Imprägnierung der Netze erfolgt in einem Tropfen Bleicitrat 60-90 Sekunden lang (VENABLE u. COGGESHALL 1965). Die Netze werden mit der Objektseite nach unten auf den Bleicitrattropfen gelegt. Dies geschieht in einer mit NaOH-Würfeln erzeugten wasserfreien Atmosphäre. Nach der Kontrastierung wird mehrmals mit 0,02 m NaOH-Lösung und mit Aqua dest. gespült.

5. Herstellung der licht- und elektronenmikroskopischen Aufnahmen

Die lichtmikroskopischen Aufnahmen wurden mit dem Photomikroskop II von Zeiss durchgeführt. Als Film diente der Kleinbildfilm Agfa Isopan ISS. Elektronenmikroskopische Aufnahmen wurden am Zeiss Elektronenmikroskop EM 9 S bei den folgenden Vergrößerungsstufen gemacht. Stufe 1 = 2000 fach, Stufe 2 = 5000 fach, Stufe 3 = 9000 fach, Stufe 4 = 26 000 fach. Als Film wurde Agfa Scientia 23 D 56 benützt. Von den EM-Negativen wurden zuerst Kontaktkopien hergestellt. Nach Beurteilung der Positivabzüge wurden 3-4 fache Vergrößerungen angefertigt.

6. Das Festhalten der Operationssitus

Die Operationsbilder wurden bei 6, 10 und 16 facher Vergrößerung durch das Zeiss Operationsmikroskop aufgenommen. Geblitzt wurde bei Blende 32.

IV. Befunde

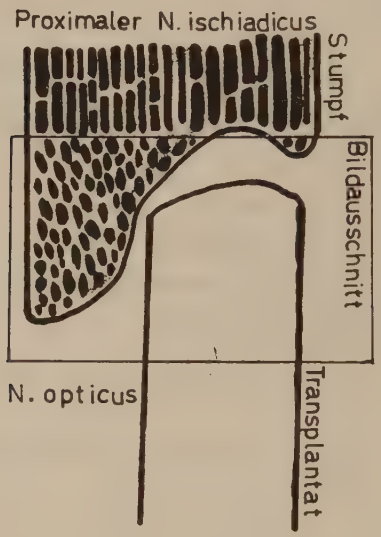
1. Transplantationsexperimente (N. opticus - N. ischiadicus)

Die zu den Transplantationsexperimenten vorliegenden Befunde sollen der Übersichtlichkeit wegen für 3 Zeitabschnitte beschrieben werden.

1.1. Befunde bis eine Woche nach der Transplantation (Abb. 6-10, Schema 9)

Das von der Dura befreite Opticussegment heilte nahezu reaktionslos am N. ischiadicus ein. Die um das Nahtmaterial sich entwickelnden Fremdkörpergranulome waren nicht hinderlich und der Kontakt zwischen proximalem Ischiadicusstumpf und dem zentralen Gewebe war bei exakter Operation gut hergestellt. Während die Schwannzellen bei peripheren Nerventransplantationen gut überleben (AGUAYO et al. 1977), betrug hier die maximale Überlebenszeit der zentralen Gliasäule 3 Tage. Die Nutrition war also trotz Entfernung der Dura für die Erhaltung des zentralen Gewebes nicht ausreichend. In der Mehrzahl der Fälle entwickelte sich eine ischämische Nekrobiose (Abb. 7), wie sie bereits am N. opticus in situ nach Durchtrennung der Arteria nervi optici experimentell erzeugt wurde (SCHLOTE 1970). Bei dieser unzureichenden Ernährung kam es zum feinkörnigen Zerfall des Axoplasmas, die Markmäntel spalteten sich zu einzelnen Lamellen auf, Markscheidenabschnitte zerbarsten und es entstand insgesamt ein Bild der Fragmentierung. Die so entstandenen Markscheidenfragmente ordneten sich kreisförmig an und bildeten wabenförmige, zystische Netze. Bei einem Tier war nach 3 Tagen noch keine ischämische Nekrobiose eingetreten (Abb. 8 und 9), hier war die Diffusion mit Nährstoffen aus der Umgebung zunächst also ausreichend. Alle Transplantate, die nach mehr als 3 Tagen zur histologischen Untersuchung entnommen wurden, zeigten kein erhaltenes zentrales Gliageflecht mehr.

Die beim Markscheidenzerfall freiwerdenden Lipide wurden von ortsständigen, aus Astrozyten entstandenen oder einwandernden Makro-



Schema 9:
Schematische Darstellung der Kontaktstelle zwischen N. ischiadicus und N. opticus-Transplantat. Eingezeichneter Bildausschnitt siehe Abb. 6.

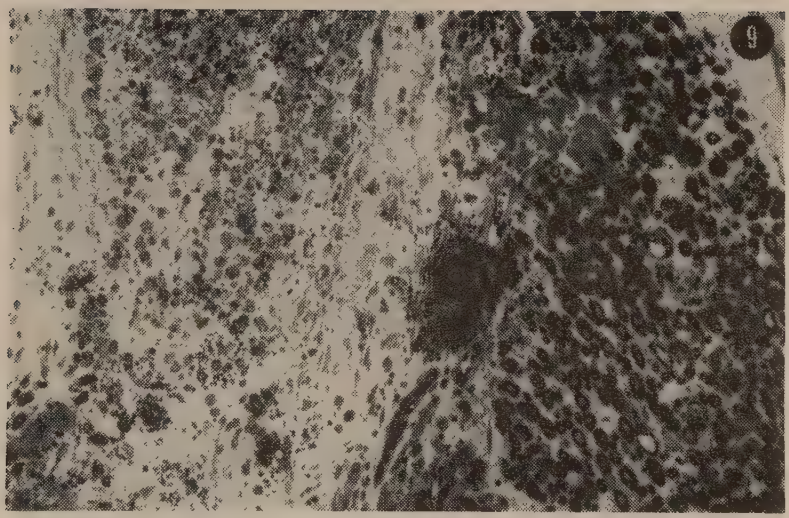


Abb. 6: Kontaktstelle zwischen proximalem N. ischiadicus-Stumpf (links oben) und N. opticus-Transplantat (rechts unten) 5 Tage nach der Verpflanzung. Vergrößerung: 800 : 1.

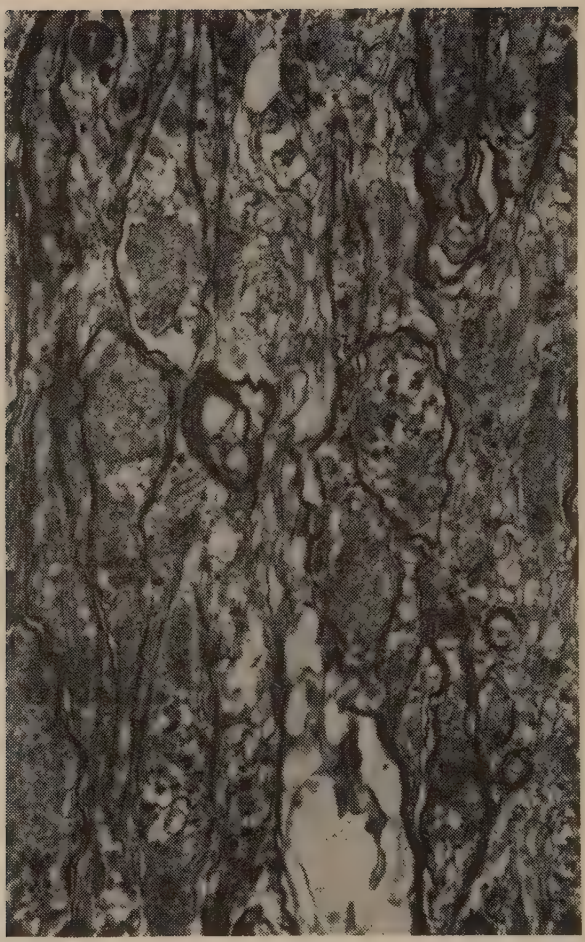


Abb. 7: N. opticus-Transplantat 3 Tage nach der Transplantation. Ischämische Nekrobiose. Aufspaltung der Markmäntel zu einzelnen Lamellen. Markscheidenfragmentierung. Vergrößerung: 12000 : 1.

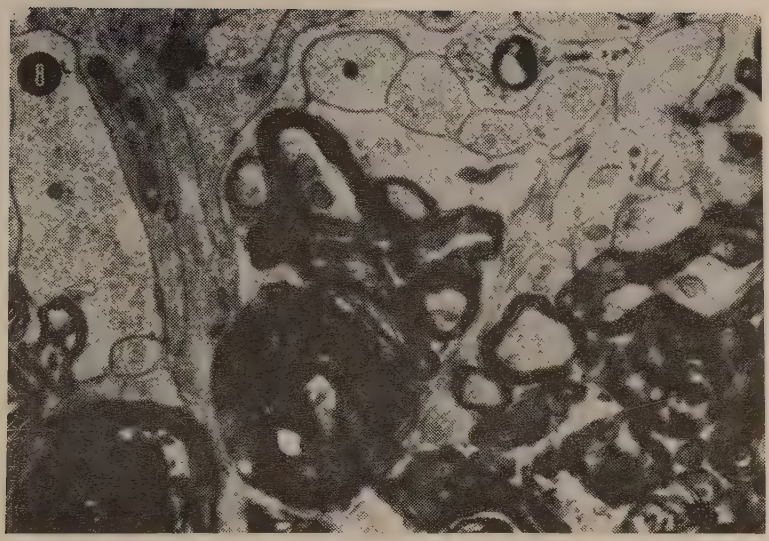


Abb. 8 und 9: Ebenfalls Opticustransplantat 3 Tage nach der Operation, bei einem anderen Tier. Hier entwickelte sich keine ischämische Nekrobiose. Erhaltenes Gliageflecht, Diffusion war ausreichend. Vergrößerung 27000 : 1.

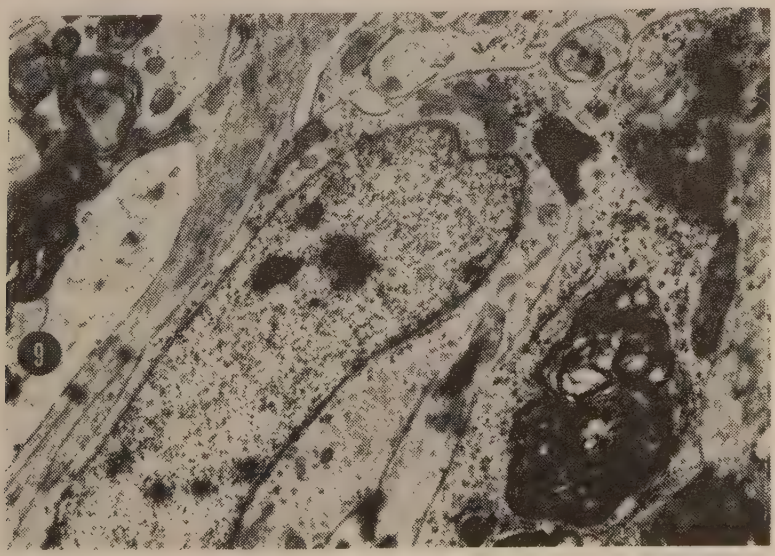


Abb. 10: Sehnerventransplantat 1 Woche nach der Verpflanzung. Markscheiden-Ovoide innerhalb des Transplantats in Längsorientierung. Vergrößerung 400 : 1.

phagen aufgenommen. Sämtliche zentrale Gliazellen gingen zugrunde. Im Zytoplasma der riesigen Makrophagen findet man aufgefaserte Membranstrukturen, der Formenreichtum der dort vorhandenen Myelinpakete ist erheblich. Die Phagozytose der Makrophagen führt bis zu Fettröpfchenanhäufungen, so daß man diese Zellen dann als Fettkörnchenzellen bezeichnen kann. Da bei den üblichen Einbettungsverfahren die Fettsubstanzen aus dem Zelleib herausgelöst werden, sieht man nur noch ein feines Gitter- oder Netzwerk, weshalb auch der Begriff Gitterzellen verwendet wird. Die Markscheiden liegen nach einer Woche als zusammengeballte Ovoide vor, wie sie oft auch bei der Waller'schen Degeneration beschrieben wurden.

Die 4 Wochen vordegenerierten Transplantate verhielten sich, zumindest was die Ernährung anbetraf, völlig identisch mit den nicht vordegenerierten Transplantaten.

1.2. Befunde nach 2 Wochen (Abb. 11 und 12)

Interessant ist, daß der transplantierte Sehnervenabschnitt auch nach 2 Wochen noch als deutlich erkennbarer Gewebsstrang vorliegt. Seine Piaabdeckung wird von außen nicht durch Makrophagen oder Bindegewebszellen aufgelockert oder gar durchbrochen. Vor allem in Längsrichtung verlaufende Kollagenfasern weben das Transplantat ins umgebende Bindegewebe ein.
Im Innern entstehen schweifartige Fibroblastenbänder, die für die regenerierenden peripheren Nervenfasern möglicherweise als Leitschienen oder Spannungslinien ("lines of stress") im Sinne von GUTH (1975) dienen könnten. Dies müssen die Befunde nach längeren Untersuchungszeiten zeigen. Jedenfalls findet man nach 2 Wochen noch keine morphologischen Strukturen, die man eindeutig als regenerierte periphere Axone ansprechen könnte. Im proximalen Teil des

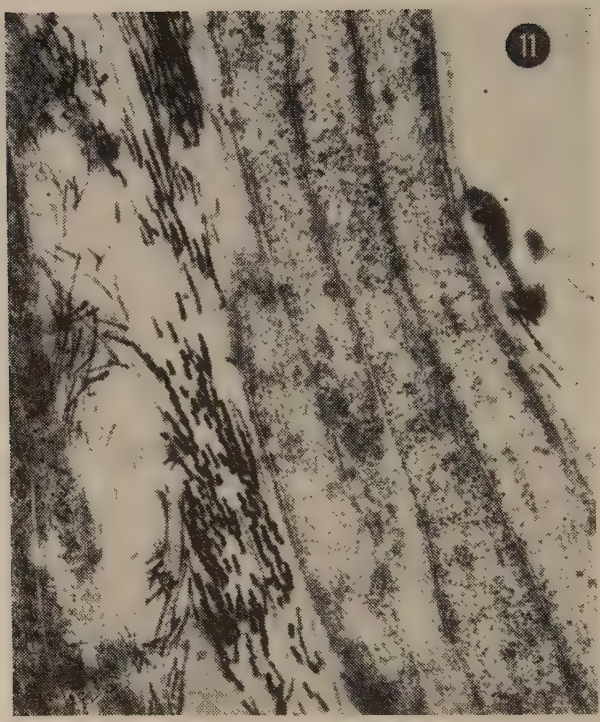


Abb. 11: N. opticus-Transplantat. Von einer Basalmembran umgebenes parallel angeordnetes Faserbündel im proximalen Teil des Opticustransplantats. Gebündelte Axone oder Schwannzellfortsätze? Vergrößerung 27000 : 1.

Abb. 12: N. opticus-Transplantat. Schweifartige Fibroblastenbänder innerhalb des Transplantats 2 Wochen nach der Operation. Vergrößerung 640 : 1. Degenerierende Opticusfasern, Myelinballen in Makrophagen.

Opticustransplantats sind parallel angeordnete Faserbündel zu sehen. Sie sind von einer Basalmembran umhüllt. Eine Entscheidung, ob es sich dabei um Axonsprosse oder um gebündelte Schwannzellfortsätze handelt, kann hier nicht getroffen werden. Im Raum zwischen den Fibroblastenbändern findet man noch in Längsrichtung orientierte Myelinballen und locker angeordnete, präkollagene und kollagene Fasern. In der Nähe des proximalen Stumpfs des N. ischiadicus waren auch Zellformen zu sehen, die Übergänge zwischen Fibroblasten und Perineuriumzellen darstellten. Diese Zellen sind unvollständig von Basalmembranen umgeben, was auch schon früher bei regenerierenden peripheren Nerven beschrieben wurde (THOMAS u. JONES 1967). Der transplantierte Opticusabschnitt ist in seinem Durchmesser etwas verringert, dies ist wohl auf einen von innen her nachlassenden Gewebsdruck zurückzuführen.

1.3. Befunde nach 4, 6 und 12 Wochen (Abb. 13 - 18)

Auch hier zeigt sich das Opticustransplantat nicht konturlos. Es bleibt, wie aus den Bildern zu ersehen ist, auch nach 4,und 6 Wochen in seiner geweblichen Längsorientierung erhalten. Nach 4 Wochen ist das Transplantat bereits von Nervenfaserbündeln durchzogen, die entlang der Fibroblastenbänder gewachsen sein müssen, weil kaum größere Schlängelungen zu sehen sind. Die Axonbündel sind noch wenig bemarkt, marklose Nervenfasern sind reichlich zu sehen. Auch die marklosen Axone sind von einem schmalen Zytoplasmasaum umgeben (Abb. 15). Völlig nackte Axone, also nur von einer Basalmembran umgebene Nervenfasersprosse, wurden nie gesehen. Umgeben werden die in Schwannzellen eingehüllten Nervenfaserbündel von Perineuriumzellen, die in mehreren Schichten sich gegenseitig überlappen. Zwischen den Perineuriumschalen und den Nervenfasern findet man vor allem Kollagenfasern in Längsorientierung. Die Kollagenfibrillen haben peri- und endoneural verschiedene Durchmesser, zwischen den Perineuralzellen kommen

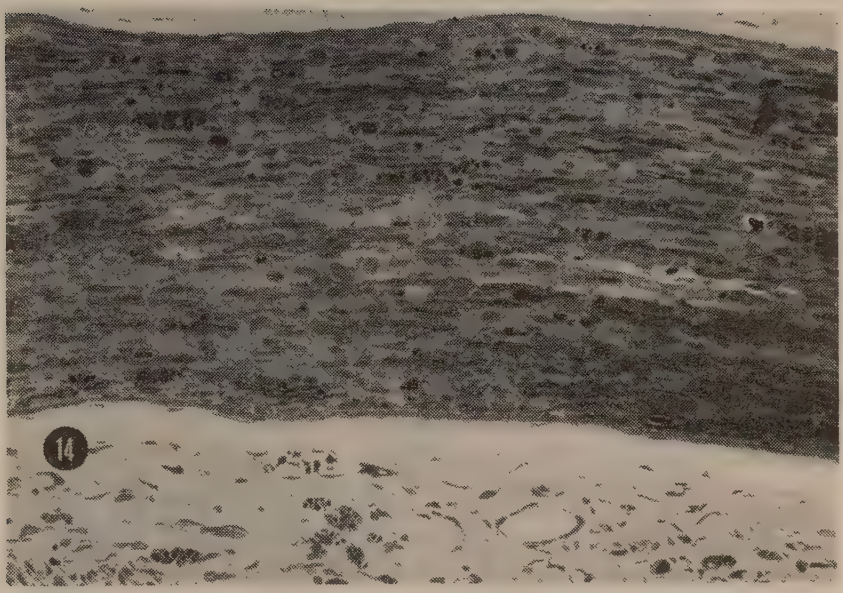
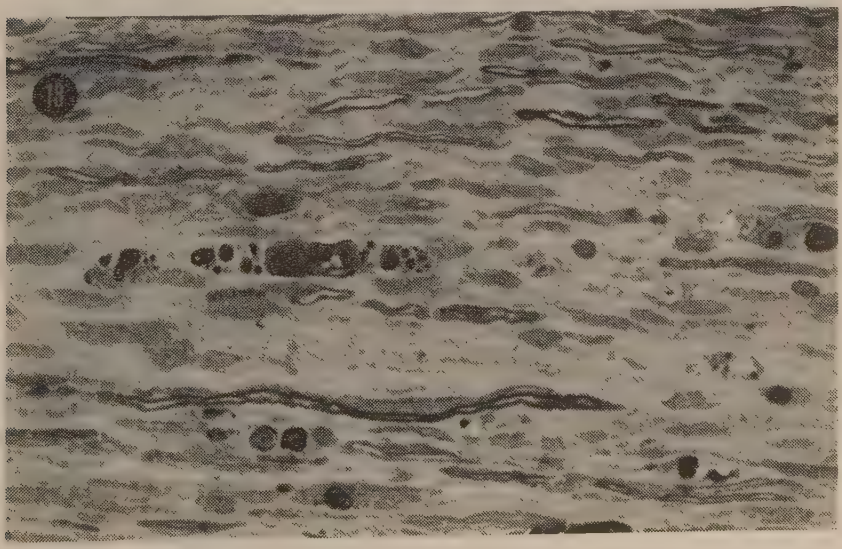


Abb. 13 und 14: Von peripheren Nervenfaserbündeln durchzogenes N. opticus-Transplantat nach 4 Wochen. Reichlich bemarkte und unbemarkte Axone. Dazwischen vereinzelt Myelinabbauprodukte. Vergrößerung 640 : 1 (Abb. 13) und 400 : 1 (Abb. 14).



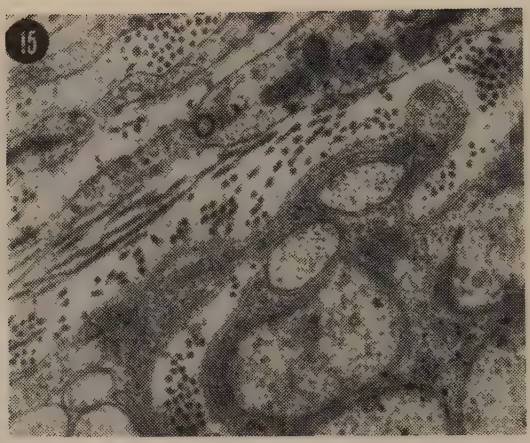


Abb. 15: Unbemarkte Axonbündel im N. opticus-Transplantat, von mehreren Perineuriumschalen umgeben. 4 Wochen nach der Transplantation. Vergrößerung 27000 : 1.

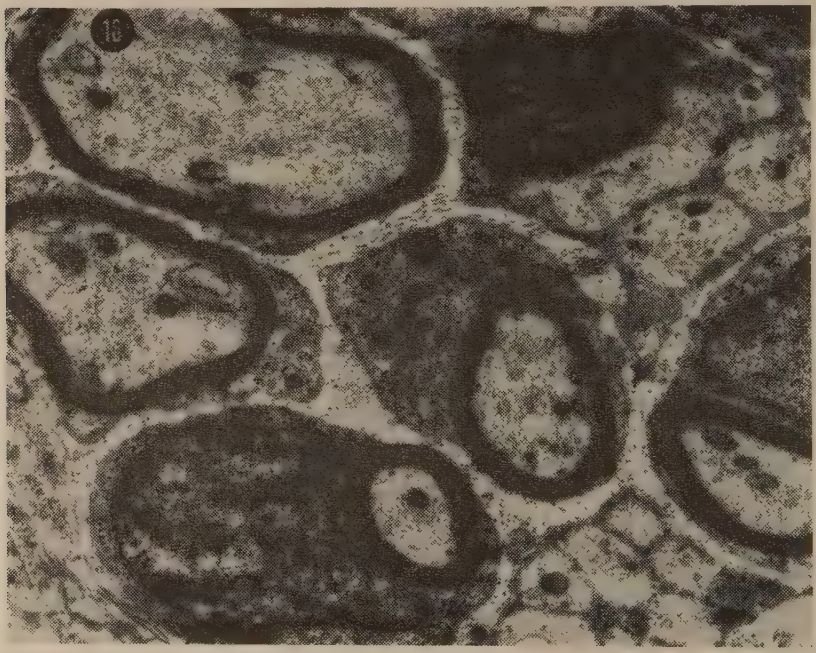


Abb. 16: Die Bemarkung ist an anderer Stelle des gleichen Transplantats schon weiter fortgeschritten. Vergrößerung 27000 : 1.

Abb. 17: Deutlich stärkere Bemarkung der peripheren Faserregenerate im Sehnerven 6 Wochen nach der Transplantation. Große Blutgefäße entlang des N. opticus-Segments. Vergrößerung 400 : 1.

Abb. 18: N. opticus-Segment 6 Wochen nach der Transplantation. Viele Nervenfaserregenerate auch außerhalb des Transplantats im Bindegewebe. Oben (↗) das mit Ischiadicusaxonen durchzogene N. opticus-Transplantat. Unten (➡) der undurchtrennte N. ischiadicus-Faszikel (siehe dazu Operationsaufnahme: Sehnerventransplantat ohne Dura am N. ischiadicus). Vergrößerung 400 : 1.

auch vereinzelt Fibroblasten vor (THOMAS u. JONES 1967).
Nach 6 Wochen ist die Bemarkung der peripheren Axone im N. opticus-Transplantat schon fortgeschritten. Die Perineuriumschalen sind regelmäßiger geworden, für sie sind die multiplen Pinozytosebläschen, die flachen Zellkerne, das geringe Zytoplasma und die gut ausgebildeten Hemidesmosomen charakteristisch. Entlang des Transplantats kann man nach 4 und 6 Wochen schon makroskopisch große Blutgefäße sehen, was auch aus dem histologischen Bild ersichtlich wird.
Es bleibt noch zu ergänzen, daß auch außerhalb des Opticussegments Nervenfasern ins Bindegewebe wuchern. Dies ist schon aus dem Kaliberunterschied zwischen Opticus- und Ischiadicusstumpf verständlich. Der Ischiadicusstumpf hat einen größeren Durchmesser als das Transplantat. Außerdem wurde bei der Operation keine End-zu-End-Naht aus bereits oben in der Methodik geschilderten Gründen durchgeführt. Auf eine Stumpfumscheidung, wie sie in der Neurochirurgie bei Nervennähten z.B. mit gefriergetrockneter Dura oder Silastic geläufig ist (SUNDERLAND 1978), wurde ebenfalls verzichtet. Die im Bindegewebe wuchernden Axonregenerate haben einen geschlängelteren Verlauf, sie finden hier keine Leitbahn vor. In ihrem morphologischen Bild stellen sie eine typische Neurombildung dar.
Nach 3 Monaten ist die Bemarkung im Transplantat noch weiter fortgeschritten.
Das verpflanzte N. opticus-Segment wird also von regenerierenden peripheren Axonen durchwachsen, wobei das Vordringen der regenerierenden peripheren Ischiadicusaxone durch das Sehnerventransplantat sehr viel geordneter verläuft als das Aussprossen der abernierenden Fasern im umgebenden Bindegewebe. Das Transplantat kann als ein Leitgewebe betrachtet werden, selbst die Abräumung der zentralen Markscheidenovoide stört das Auswachsen der peripheren Nervenfasern nicht.

1.4. Versuche zur Verbesserung der Ernährungsbedingungen des zentralnervösen Opticussegments

Es wurde versucht das Transplantat rückenmarksnäher zwischen die N. ischiadicusstümpfe bzw. rückenmarksferner in Richtung des N. peroneus communis zu transplantieren. Weiterhin wurde versucht den gesamten N. ischiadicus mit seinem Transplantat nach tieferer Öffnung der Muskulatur am Oberschenkel der Ratte nur mit abpräparierter Muskelfaszie zu übernähen. Als weiterer Versuch zur Verbesserung der Ernährungsbedingungen wurde auch eine nur unvollständige Übernähung mit Epineurium ausprobiert.
Aus histologischen Befunden ging hervor, daß keine dieser genannten Versuchsreihen die Überlebenszeit der Opticus-Gliasäule verlängern konnte.

2. Anastomosierungsexperimente (Facialisast - N. opticus)

Die licht- und elektronenmikroskopischen Befunde wurden hier. 3 Wochen und 3 Monate nach der peripher-zentralen Nervenverknüpfung erhoben.

2.1. Befunde nach 3 Wochen (Abb. 19-21)

Trotz der erheblichen Dislokation des Facialisasts unter dem Processus zygomaticus hindurch, blieben die peripheren Axone auf ihrer Wegstrecke zum Stumpf hin unverletzt. Es kam zum Auswachsen regenerierender Nervenfasern auf den traumatisierten Anastomosierungsbereich zu, von dort drängten die Axonregenerate zum pialen Hüllmesenchym des N. opticus. Nach 3 Wochen hatten sie jedoch den Sehnerv noch nicht erreicht. Im Bereich der Traumazone sind grosse Fettkörnchenzellen zu finden, die ganze Zellkörper phagozy-

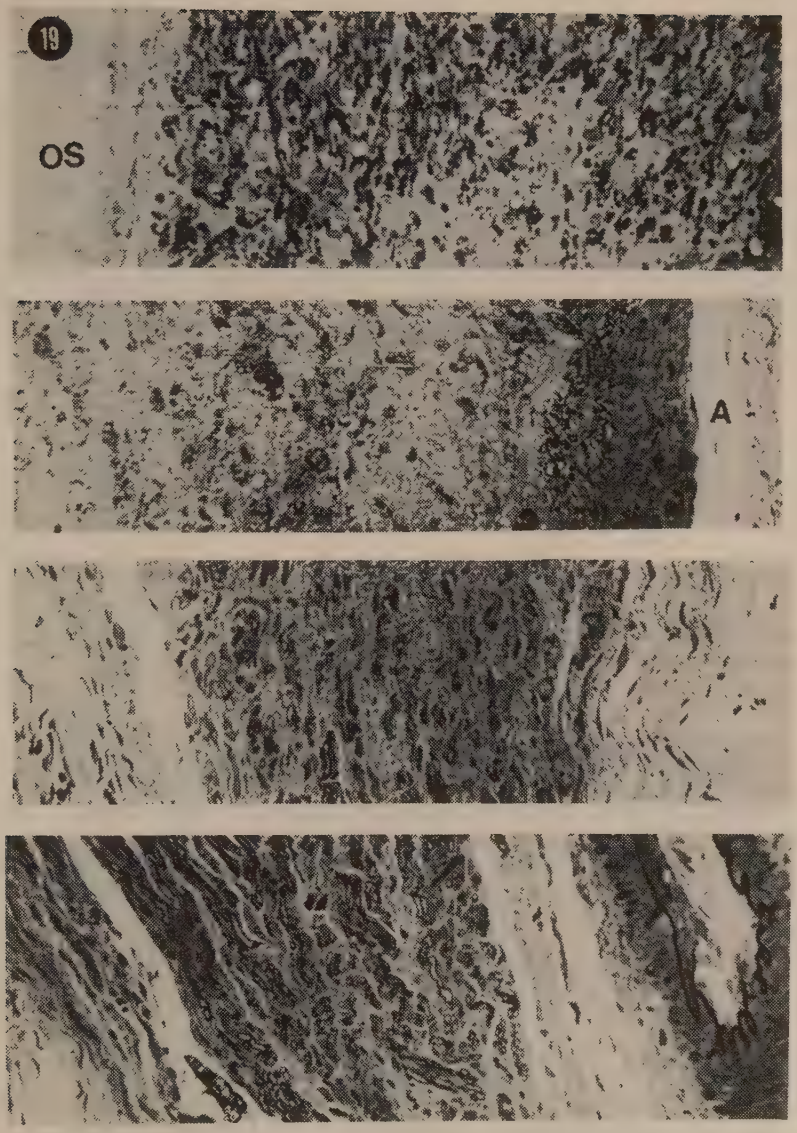


Abb. 19: N.facialis - N.opticus - Anastomosierung, nach 3 Wochen. Ausschnitte aus dem Anastomosierungsbezirk in topografischer Reihenfolge. Bemarkte Axonregenerate des N. facialis (d), Endabschnitte der Axonregenerate (c), traumatisierte Anastomosezone (b), Opticusstumpf (OS) mit Myelinabbauprodukten. 400 : 1.

Abb. 20 und 21: Nahe am N. opticus-Stumpf sind vor allem unbemarkte Axonregenerate nach 3 Wochen zu sehen. Oben wird eine Anzahl unbemarkter peripherer Axone von einem Fibroblasten zu einem Bündel zusammengefaßt. Diese Fibroblasten entwickeln sich zu Perineuriumzellen. Vergrößerung 27 000 : 1 (Abb. 20), 20 000 : 1 (Abb. 21).

tiert haben. Eine Basalmembran um das zentrale Opticusgewebe hat sich , möglicherweise wegen der noch laufenden Abräumreaktion, nicht gebildet. Im Querschnitt durch den Anastomosierungsbereich sieht man ganze Geschwader von noch unbemarkten Axonbündeln. Diese Bündel werden auch hier bereits von Perineuriumschalen zusammengefaßt.

2.2. Befunde nach 3 Monaten (Abb. 22 - 23)

Nach 3 Monaten haben die Axonregenerate den Opticusstumpf erreicht. An seinen Längsseiten laufen sie im pialen Bindegewebe entlang. Ein Eindringen von Nervenfasern in das zentrale Gewebe konnte nicht nachgewiesen werden. Aus dem Stumpf stülpen sich fingerartige, aus Astrozytenfortsätzen bestehende Zapfen in Richtung der regenerierenden Facialisfasern vor. Sie bestehen aus astrozytären Endfüßchen. Diese Zapfen sind von einer geschlossenen Basalmembran umgeben, das zentrale Nervengewebe wird dadurch vom gesamten umhüllenden Bindegewebe scharf abgetrennt. Der Sehnervenstumpf fällt durch einen Reichtum an Markscheidendegeneraten auf, was nach 3 Monaten sekundärer Faserdegeneration allerdings nicht ungewöhnlich ist. Gliazelladhäsionen sind ebenfalls vermehrt zu sehen. Die Form des Stumpfes erscheint im Längsschnitt konusartig, obwohl der N. opticus scharf quer durchtrennt wurde. Es ist also höchstwahrscheinlich zu einem aktiven Vorwachsen der Astrozytenfortsätze aus dem N. opticus gekommen. Die Axonregenerate des N. facialis meiden den direkten Kontakt mit der Basalmembran, durch eine dünne, dem Opticus aufliegende Bindegewebsschicht werden sie an die Außenseite der zentralen Faserstrecke geleitet. Möglicherweise spielen auch die Fettkörnchenzellen der Traumazone für die Abdrängung der peripheren Axone in die Piaumhüllung des Sehnervs eine Rolle.

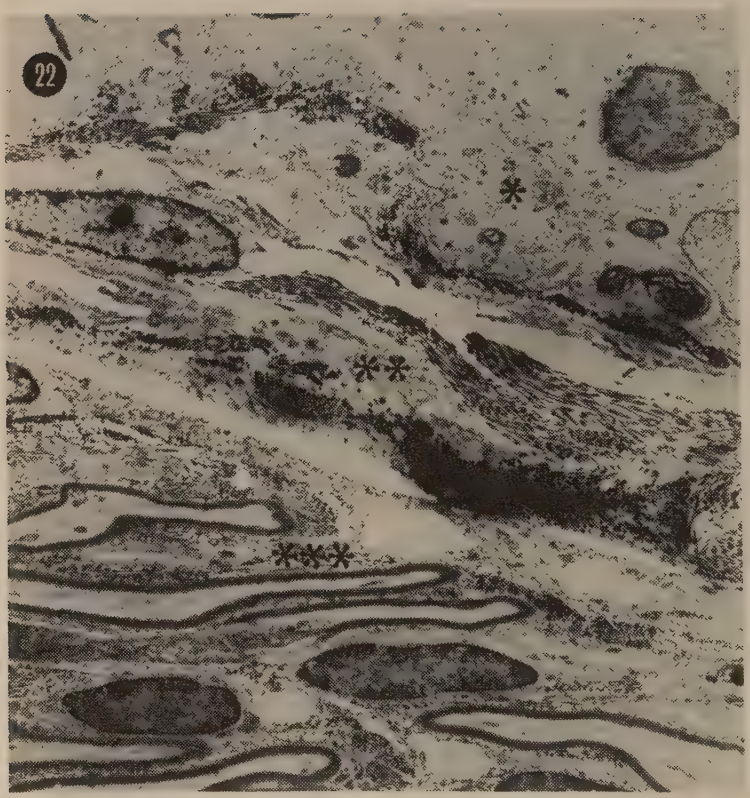


Abb. 22: N. facialis-N. opticus Anastomosierung. Bemarkte Nervenfaserbündel in der Piaumhüllung des Sehnerven 3 Monate nach der Anastomosierung. Oben: N. opticus * ; Mitte: Pia ** ; Unten: Facialisfasern *** . Vergrößerung 10 000 : 1.

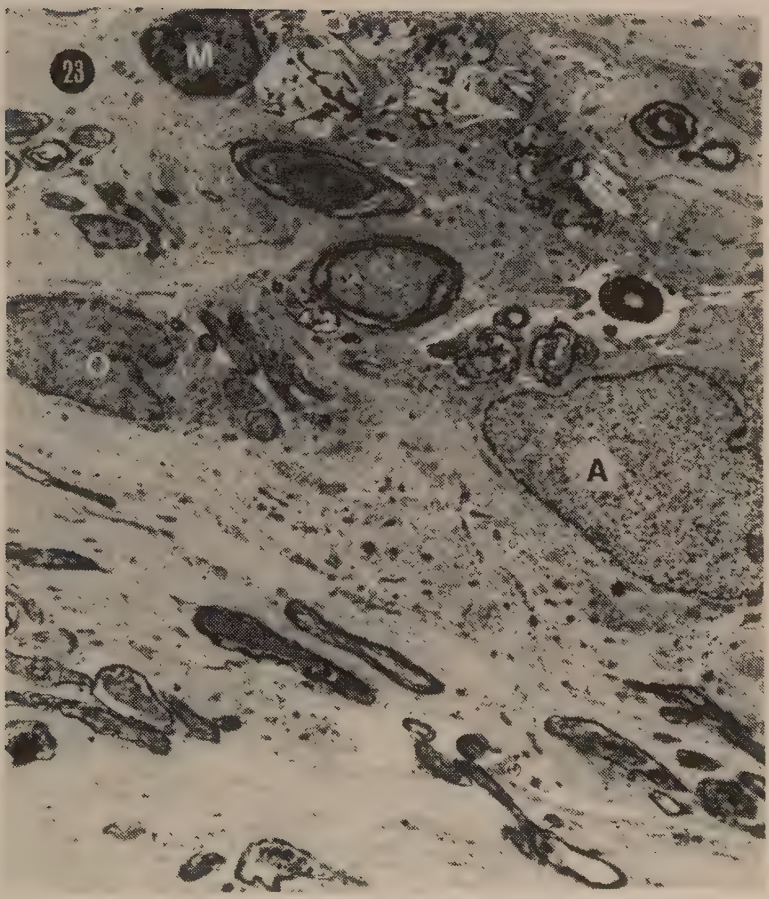


Abb. 23: N. facialis-N. opticus Anastomosierung. N. opticus-Stumpf 3 Monate nach der Anastomosierung **A** Astrozyt **O** Reaktiver Oligodendrozyt **M** Reaktive Mikrogliazelle. Vergrößerung 15000 : 1.

Während beim Anastomosierungsexperiment Astrozytengeflecht, Basalmembran und Pia ein Eindringen der peripheren Nervenfasern in das zentralnervöse Gewebe des Sehnerven verhinderten, kam es beim Transplantationsexperiment zu einem gerichteten Einwachsen der Ischiadicusaxone in den N. opticus.
Die Abräumung des zentralen Gliageflechtes im Opticus-Transplantat auf der einen Seite und das Einsprossen der peripheren Nervenfaserregenerate auf der anderen Seite liefen völlig ungestört nebeneinander her. In beiden Experimenten war die periphere Faserregeneration eine heteromorphe Neurotisation (s. S. 36 und S. 84), weil Schwannzellsäulen, wie sie im distalen Teil durchtrennter peripherer Nerven entstehen (s. S. 35), den regenerierenden Axonen nicht zur Verfügung standen.

V. Diskussion

Die These, die Gliabarriere stelle ein Hindernis für die Regeneration zentraler Nervenfasern dar, wurde in 2 Versuchsreihen überprüft, in denen nach Läsion eines zentralen Markfasersystems die Gliazellen entweder nach 3 Tagen zugrunde gingen (Experiment I) oder erhalten blieben und eine Glianarbe bildeten (Experiment II).

1. Erörterung der Anastomosierungsversuche (Experiment II)

Nach 3 Wochen konnte man das Vorwachsen peripherer Axonsprosse bis in die Verbindungszone beobachten. Der Opticusstumpf unterlag zu dieser Zeit der regulären Waller'schen Degeneration. Nach 3 Monaten haben die peripheren Fasern den Sehnerven erreicht, laufen aber parallel zu ihm an seiner pialen Oberfläche entlang. Um die Glianarbe hat sich eine geschlossene Basalmembran gebildet. Der Reichtum an Markabbauprodukten im N. opticus-Stumpf war auffallend. Das Eindringen von peripheren Axonen ins Hüllmesenchym des Sehnervs soll ebenso diskutiert werden, wie die Bedeutung der festgefügten Astrozytennarbe im Opticusstumpf nach 3 Monaten.

1.1. Periphere Nervenfaserregenerate im pialen Hüllmesenchym des N. opticus

Zu Bündeln zusammengefaßte, teilweise bemarkte und unbemarkte Axonregenerate wuchsen entlang des lockeren, pialen Bindegewebes chiasmawärts. Wenn periphere Axone entlang der pialen Sehnervenhülle wachsen können, so müßten sie dazu auch im pialen Bindegewebe des Rückenmarks in der Lage sein. Man könnte periphere Nervenfasern oberhalb einer Querschnittsläsion in periphere Faserstrecken unterhalb einer Läsion umleiten. Dies

wäre für sensible wie für motorische Fasern von Bedeutung. Daraufhin wurde eine dritte Versuchsreihe begonnen, die noch nicht abgeschlossen ist. Ein Intercostalnerv der Ratte, dessen Funktionsverlust wegen der überlappenden Innervation an der Thoraxwand leicht entbehrlich ist, wurde bis in den Bereich der seitlichen Brust freipräpariert. Danach wurde er durchtrennt und in den Subarachnoidalraum etwa 1-2 Segmente nach caudal zurückverlegt. Die aus dem Intercostalnerv aussprossenden Axone könnten sich caudaleren Spinalwurzeln anschließen. Ähnliche Operationen wurden schon 1960/61 durchgeführt (JAKOBY, TURBES u. FREEMAN 1960, FREEMAN 1961). Dabei wurde jedoch der Intercostalnerv, auch mit der Absicht eine Rückenmarksläsion zu überbrücken, in das Rückenmark reimplantiert. Durch die Reimplantation entstehen erhebliche Zerstörungen von zentralem Gewebe. Außerdem bilden sich Gliabarriere und Basalmembran. Auf diese Weise entwickeln sich intramedulläre Neurome (WOLMAN 1967).
Mit einer Einstülpung in den Subarachnoidalraum vermeidet man diese Nachteile.
Aus der eigenen Versuchsanordnung ergibt sich zum anderen die Möglichkeit das Verhalten peripherer, regenerierender Axone gegenüber zentralem Gewebe zu untersuchen.

1.2. Die festgefügte Astrozytennarbe des N. opticus-Stumpfes nach 3 Monaten

Die bei dem Anastomosierungsexperiment entstandene dichte Astrozytennarbe macht die Berechtigung der Hypothese über die Barrierefunktion der wuchernden Glia deutlich. Jede Regeneration zentraler Axone verfängt sich nach kurzem Anlauf im glialen Maschenwerk (AGUAYO et al. 1978, LAMPERT u. CRESSMAN 1964). Dies beruht möglicherweise auf einer unzureichenden Stabilisierung der

Axonsprosse durch die oligodendrozytäre Umhüllung oder aber auf einer verlorenen Signalwirkung der Axonsprosse auf die Astrozyten, den Weg für die regenerierenden Nervenfasern freizugeben. Vorstellbar wären Rezeptoren an der Astrozytenoberfläche und spezifische molekulare Signale der Regenerate.

Im Rahmen der Waller'schen Degeneration kommt es distal einer Läsion zu einer Vermehrung der Astrozytenfortsätze, man könnte von einem Einmauern der Läsionszone sprechen.

Diskutiert wurde die genetisch determinierte innere Regenerationsunfähigkeit des Säugeraxons. Diese Hypothese mußte verworfen werden (vgl. S. 20). Es scheint jedoch eine genetisch determinierte Unfähigkeit der zentralen Glia zu geben, vor Herstellung einer Läsion eingenommene Funktionen wiederaufzunehmen. Es vollzieht sich möglicherweise ein Aufgaben- oder Funktionswandel der Glia nach Läsionen. Eine funktionelle Regeneration im ZNS wird verhindert.

Es soll damit nicht ausgedrückt werden, daß eine Beeinflussung der Gliareaktion nach Läsionen nicht möglich ist. Dies zeigen zweifelsfrei schon die erwähnten, regenerationsfördernden Substanzen.

Der planlosen Synapsenbildung fällt nur nach Läsionen im Bereich der grauen Substanz des Zentralnervensystems eine regenerationsbegrenzende Funktion zu.

Auch die anderen Hypothesen zur abortiven Regeneration im ZNS vermögen nur Teilaspekte der Regenerationsproblematik zu erklären.

In zukünftigen Experimenten muß die Beeinflussung der Gliareaktion weiter untersucht werden. Die vermehrte Astrozytenverflechtung müßte selektiv so gehemmt werden, daß es nicht zu einer Beeinflussung des axonalen Stoffwechsels kommt.

Sollte eine Auflockerung der Astrozytennarbe bereits eine bessere Regeneration zentraler Axone erbringen, so würde dies gegen eine

Signalwirkung zwischen Axon und Astrozytenoberfläche und für eine rein mechanische Hemmung der Regeneration sprechen. Erzeugt diese Verminderung der Astrozytenverflechtung jedoch kein besseres Auswachsen zentraler Sprosse, so spricht dies für den Verlust solcher Signale und gegen die mechanische Erklärung.

2. Erörterung der Transplantationsversuche

Um zu einer Beurteilung der Ergebnisse der Transplantationsexperimente zu kommen, sei die Aufmerksamkeit noch einmal auf folgende Punkte gelenkt. 4 Wochen nach der Transplantation des N. opticus-Segments zwischen die Ischiadicusstümpfe war das Transplantat von peripheren Nervenfasern durchzogen. Die Myelinisierung nahm dann weiter zu, wie aus histologischen Befunden nach 6 Wochen und 3 Monaten zu entnehmen war. Im Transplantat war die Glia nach 2 Wochen völlig abgebaut. Man fand Fibroblastenketten, die sich aus schweifartigen, aufgereihten Fibroblasten zusammensetzten. Die Führung regenerierender Nervenfasern erfolgt durch rein mechanische Leitstrukturen, der chemische Neutropismus gilt seit langem als widerlegt (WEISS u. TAYLOR 1944). Der N. opticus ist an seiner Oberfläche nach Abpräparation der Dura immer noch von einem feinen pialen Bindegewebsüberzug umgeben. Eventuell verhindert diese Umhüllung eine Invasion von Bindegewebszellen und Makrophagen aus der seitlichen Umgebung.

Nach einfacher Durchtrennung eines peripheren Nerven werden diese mechanischen Leitschienen durch Schwannzellsäulen gebildet. GUTH nannte diese Führungsstrukturen, um den physikalischen bzw. mechanischen Charakter hervorzuheben, Spannungslinien ("lines of stress", GUTH 1975). Im Bindegewebe um das Transplantat sind die Fibroblasten in allen Richtungen des Raumes orientiert, dies

führt dann, wie schon kurz im Befundteil erwähnt, zu einem geschlängelten, neuromatösen Verlauf der Axonregenerate. Die Ernährung des Transplantats erfolgte zu Anfang nur durch Diffusion. Die gleichen Bedingungen lagen für den Sehnerv in situ nach Durchtrennung seiner A. nervi optici vor (SCHLOTE 1970). Dort kam es aber im Gegensatz zu den hier aufgezeigten Transplantationsbefunden zu einem wirren Einwachsen von zottenartigen Bindegewebsvorstülpungen aus dem Hüllmesenchym ins Innere des Nerven.
Die in unserem Transplantat nachgewiesenen Fibroblastenketten stammen von eingewanderten Fibroblasten aus dem proximalen und distalen Ischiadicusstumpf. Zumindest spricht die strikte Längsorientierung dafür. Durch die progressive Phagozytose der Markscheiden im Opticussegment werden eventuell Wachstumskanäle für die ins Transplantat drängenden Fibroblasten frei. Von seitlich aus der Umgebung des Sehnerventransplantats können die Fibroblasten auch aus folgendem Grund nicht eingewandert sein: Die Hüllstrukturen sind hier völlig reaktionslos und unangetastet.
Der N. opticus stellt genau wie der Hinterstrang des Rückenmarks ein zentrales Markfasersystem dar. Ein transplantiertes Segment aus den Hintersträngen des Rückenmarks würde sich vermutlich zwischen den N. ischiadicus-Stümpfen ähnlich verhalten wie der transplantierte Sehnervenabschnitt. Möglicherweise würden sich auch hier bindegewebige Leitstrukturen für die regenerierenden, peripheren Fasern nach einem ernährungsbedingten Untergang zentraler Glia entwickeln.
Interessant wäre es, zu untersuchen, ob zentrales, autolytisches Nervengewebe auch als homologes Transplantat für regenerierende, periphere Axone eine erfolgversprechende Leitstruktur darstellen könnte. Der Reiz dieser Vorstellung liegt darin, daß gerade durch die Autolyse das antigene Potential des übertragenen Gewebes durch

den Zellzerfall reduziert würde, bevor die zellulären Immunreaktionen einsetzen, die aus homologen Transplantaten wirre Bindegewebsnetze machen. Die aus ortsständigen Fibroblasten im N. opticus-Transplantat entstandenen Leitketten entstammten körpereigenen Zellen, also nicht transplantiertem Gewebe. Bei einer homologen Transplantation unterliegen die Fibroblasten deswegen nicht der Abstoßungsreaktion. Histologisch könnte das gleiche Bild entstehen, wie nach autologer Transplantation im hier vorgelegten Bericht.
Um die Relevanz dieser Vorstellung überhaupt diskutieren zu können, muß man zuvor einen Überblick über die anderen Möglichkeiten für die periphere Nerventransplantation haben. Die Frage nach dem Verhalten zentralen Nervengewebes für die Überbrückung peripherer Nervendefekte wurde seit 30 Jahren nicht mehr aufgeworfen (SANDERS u. YOUNG 1949, SUNDERLAND 1978).
Von homologen, peripher-nervösen Nerventransplantaten weiß man, daß sie nach 2 Wochen abgestoßen werden. In der dritten Woche ist ihre Identifizierung als Nerven bereits schwierig. Dies gilt sowohl für Faszikel- als auch für Ganznerventransplantate (TAPOSH u. DAS GUPTA 1967). Es kommt bei homologen Nerventransplantaten zur Invasion des Gewebes mit Lymphozyten, Plasmazellen und aktivierten Makrophagen. Die Schwannzellsäulen werden aufgebrochen, schrumpfen und werden abgeräumt (TAPOSH u. DAS GUPTA 1967, POLLARD u. FITZPATRICK 1973a). Nach 2 Wochen ist die Basalmembran bereits unterbrochen (POLLARD u. FITZPATRICK 1973a).
Bestrahlte oder gefriergetrocknete, homologe Transplantate stellen nur noch zellfreie Kollagenpräparationen dar. Die Zellen im Nerv sind abgestorben (SUNDERLAND 1978). Die Bestrahlung führt sogar zu einer späteren Anregung der Fibrosierung im verpflanzten Nervenstück, mit überaus starker Kollagenablagerung.

Das noch vorhandene Myelin wird erheblich verzögert abgeräumt und das Transplantat mit Entzündungszellen infiltriert (POLLARD u. FITZPATRICK 1978b, SUNDERLAND 1978, Mc LEOD et al. 1975, LEVINTHAL, BROWN u. RAND 1978a).

DAS GUPTA und TAPOSH (1967) glaubten, aus ihren Untersuchungen die Folgerung ziehen zu können, daß eine Prädegeneration von 6 Wochen ein homologes Transplantat optimal für die Übertragung macht. Auch DICKSON glaubt an eine Verbesserung der Transplantationseigenschaften durch Prädegeneration der Nerven (DICKSON et al. 1977). Schon 1970 wurde jedoch in einer vergleichenden Untersuchung nachgewiesen, daß eine Vordegenerierung von Nerventransplantaten keinen Vorteil erbringt (DUCKER u. HAYES 1970).

Die Verpflanzung vordegenerierten Gewebes erscheint auf den ersten Blick sinnvoll, denn es enthält weniger Myelin, das wohl als wichtigster antigener Faktor bei allogenen Nerventransplantationen wirkt (LEVINTHAL, BROWN u. RAND 1978). Die transplantierten Schwannzellen bilden jedoch dann nach Kontakt mit den auswachsenden regenerierenden Axonen ihr Myelin und werden daraufhin verspätet abgestoßen (POLLARD u. FITZPATRICK 1973a).

Bei Nerventransplantationen unter Immunsuppression kommt es zu einer geringeren Kollagenablagerung und zu einer erhöhten Dichte an myelinisierten Fasern. Da man die Immunantwort jedoch nur eine Zeitlang unterdrücken kann, werden die transplantierten Schwannzellen letztlich doch abgestoßen (POLLARD u. FITZPATRICK 1978b). Antilymphozytenserum verhindert dabei die Abstoßung besser als Imuran (VERHOOG u. van BEKKUM 1971). Nerventransplantationen sind keine lebensrettenden Maßnahmen, deswegen verbietet sich eine dauernde immunsuppressive Therapie (SUNDERLAND 1978), zum anderen hemmt möglicherweise eine chemische Immunsuppres-

sion auch die Regeneration der Axone (IKEDA 1966).
Auch eine Gewebstypisierung homologer Nerventransplantate, wie dies z.B. bei Nierentransplantationen üblich ist, konnte die Antigen-Antikörperreaktion nicht verringern. Es wurde mittels solcher ausgesuchter, homologer Transplantate die Regeneration nicht verbessert (SINGH u. De LANGE 1975).
Man kann zusammenfassend davon ausgehen, daß unter realistischer Betrachtung homologe peripher nervöse Nerventransplantate rein bindegewebige Überbrückungsstrukturen für die regenerierenden Axone darstellen, da die übertragenen Schwannzellen durch eine Immunreaktion zerstört werden.
Das Regenerationsmuster in diesen Transplantaten entspricht einer Regeneration ins Bindegewebe und stellt eine sogenannte heteromorphe oder neuromatöse Neurotisation dar (HILLER 1951).
Bei homologen Transplantationen zentralen Nervengewebes bieten sich möglicherweise für die Immunprozesse geringere Auslösepunkte als dies bei homologer Transplantation peripherer Nervensegmente der Fall ist, weil die antigenen Strukturen bereits zugrundegegangen und der Phagozytose zum Opfer gefallen sind. Dies ist auf die unzureichende Ernährung des wesentlich dichteren Gewebes durch Diffusion zurückzuführen.
Es wäre deshalb denkbar, daß die Bindegewebsstruktur homologer, zentralnervöser Transplantate nach Autolyse sich gleichmäßiger darstellt, als die Bindegewebsstruktur peripherer, homologer Nerventransplantate.
Ein weiterer wesentlicher Befund war, daß sich im Opticustransplantat um die regenerierten Nervenfaserbündel Perineuriumschalen bildeten. Die Perineuriumzellen entstehen höchstwahrscheinlich aus Fibroblasten (THOMAS u. JONES 1967, GAMBLE u. BREATHNACH 1965). Das bemerkenswerte dabei ist, daß nicht nur die Axone die Markscheidenbildung induzieren, dies wurde bereits

erwähnt, sondern daß wahrscheinlich die Markscheidenbündel in einer 2. Stufe die Bildung von Perineuriumzellen anregen . SCHRÖDER u. SEIFFERT, die dies schon 1970 beschrieben haben, sprechen von einem starken formativen Einfluß der Nervenfasern auf das Bindegewebe.

Auf der anderen Seite scheint aber genauso die Anwesenheit von Bindegewebe für eine normale Markscheidenbildung notwendig zu sein. Dies wurde zumindest in Zellkulturen von peripherem Nervengewebe wahrscheinlich gemacht (BUNGE u. BUNGE 1978).

Ähnliche Bedingungen wie in den Sehnerventransplantaten bzw. wie in homologen peripheren Nerventransplantaten liegen auch in distalen Nervenabschnitten weit entfernt von einer Läsion am peripheren Nerv in späten Stadien vor.

Der distale Stumpf des Nervs besteht dann hauptsächlich noch aus einem Perineuriumzellnetz. Die Perineuriumzellen zeigen bereits eine unvollständige Basalmembran, möglicherweise stellt dies schon eine Entdifferenzierung zu Fibroblasten dar (WEINBERG u. SPENCER 1978). Demnach kommt das morphologische Bild einem gerichteten Bindegewebe nahe. Bei hohen Ischiadicusverletzungen beim Menschen z.B. muß man damit rechnen, daß die regenerierenden Axone bis zum Erreichen ihrer Zielorte länger als ein Jahr benötigen. Man könnte deshalb aufgrund der Bedingungen, die die Axone in den distalen Abschnitten ihrer Regenerationsstrecke vorfinden, von einer neuromatösen Neurotisation der Endstrecke sprechen.

Nach Abschluß der experimentellen Untersuchungen erschien eine Veröffentlichung, in der über nahezu gleiche Transplantationsexperimente berichtet wurde (AGUAYO et al. 1978). Es wurde ebenfalls an der Ratte ein Nervus opticus-Segment zum N. ischiadicus verpflanzt, die zentrale Glia blieb allerdings erhalten, einige periphere Axonsprosse sind in das Transplantat eingewachsen und sind

dort auch von Oligodendrozyten bemarkt worden.
Das Ziel dieser Untersuchung war allerdings nicht, die Rolle der Gliaproliferation für zentrale Nervenfasern zu prüfen, sondern zu beweisen, daß periphere Axone von Oligodendrozyten umhüllt und bemarkt werden können. Dazu sollten den peripheren Nervenfasern die Oligodendrozyten des N. opticus-Transplantats angeboten werden. Es ist unklar, warum hier die Gliazellen überlebt haben. Aus eigenen Befunden geht hervor, daß die maximale Überlebenszeit des Transplantats nie mehr als 3 Tage betrug. Die eigenen Befunde stehen also im Widerspruch zu den von AGUAYO et al. dokumentierten Befunden.

2.1. Mögliche Grenzen der erfolgreichen Durchwachsung des N. opticus-Transplantats mit peripheren Axonregeneraten

Für die Axonsprossung entlang der bindegewebigen Leitschienen war möglicherweise die relativ geringe Länge des Transplantats mitverantwortlich. Auch bei peripheren, homologen Nerventransplantaten wurden schon mehrmals gute Innervationsergebnisse aufgrund einer geringen Transplantatlänge erreicht. Dieser Erfolg konnte jedoch dann bei Benützung längerer Transplantate nicht in dem Maß aufrechterhalten werden (SUNDERLAND 1978, POLLARD u. FITZPATRICK 1973b).
Findet die Regeneration nicht in Schwannsäulen statt, sondern im Bindegewebe, dann erfordert dies eine multiple Reduplikation der mit den aussprossenden Axonen mitwachsenden Schwannzellen. Das Ausmaß dieses Prozesses ist unbekannt (POLLARD u. FITZPATRICK 1973b), man weiß nur, daß diploide Zellen in vitro ein Teilungspotential von 50 haben (HAYFLICK u. MOOREHEAD 1965). Dies muß aber in vivo nicht der Fall sein, da die Bedingungen in der Gewebekultur anders sind.

Die eventuell vorhandene Begrenzung der Regeneration im Bindegewebe gilt allerdings nicht nur für das Opticustransplantat, sondern auch für alle homologen Nerventransplantate. Darüberhinaus bleibt die Bedeutung der gerichteten Fibroblastenstruktur im transplantierten Sehnervensegment unangefochten. Degenerierende zentrale Fasersysteme können nach Zerfall des Gliagerüsts von peripheren Nervenfaserregeneraten ersetzt werden.

VI. Zusammenfassung

Bei insgesamt 32 Ratten wurden Untersuchungen zur Frage der Bedeutung der Gliaproliferation für den fehlenden Erfolg der Nervenfaserregeneration im Zentralnervensystem durchgeführt. Sämtliche Ergebnisse beruhen auf licht- und elektronenmikroskopischen Beobachtungen.

1. Bei der Anastomosierung eines N. facialis-Astes mit dem N. opticus wurde ein Entlangwachsen peripherer, regenerierter Axone in der Piaumhüllung des N. opticus-Stumpfes chiasmawärts nachgewiesen. Der Sehnerv war in eine Astrozytennarbe mit geschlossener Basalmembran umgewandelt. Ebenso wie periphere Axone könnten auch zentralnervöse Axone entlang bindegewebiger Hüllstrukturen im ZNS vorwachsen. Voraussetzung dafür bleibt aber eine Verhinderung der astrozytären Ummantelung der jungen Nervenfasersprosse und eine Verhinderung der Basalmembranbildung zum Bindegewebe hin.
2. Nach der Transplantation eines Sehnervensegments der Ratte zwischen die N. ischiadicus-Stümpfe überlebten die Astrozyten der zentralnervösen Gliasäule nicht länger als 3 Tage. Nach 2 Wochen hatten sich im Transplantat Fibroblasten-Ketten gebildet, die als mechanische Führungsstrukturen für einwachsende periphere Ischiadicusfasern dienten. Die Fibroblasten-Ketten ermöglichten so die Führung der peripheren Axonregenerate, die sonst von Schwannzellsäulen übernommen wird. Ein ZNS-Fasersystem kann nach Zerfall der Glia und Abräumung vollständig von peripheren Nervenfasern durchwachsen und regeneriert werden. Der fortdauernde Abbau des zentralen Myelins stört die Regeneration nicht. Das Ergebnis spricht dafür, daß die nach Verletzungen im Zentralnervensystem auftretende Astrozytennarbe das wesentliche Hindernis für eine erfolgreiche Nervenfaserregeneration darstellt.

VII. Literaturverzeichnis

AGUAYO, A.J., R. DICKSON, J. TRECORTEN, M. ATTIWELL, G.M. BRAY, P. RICHARDSON: Ensheatment and myelination of regenerating PNS fibers by transplanted optic nerve glia. Neuroscience letters 9, 97-104, 1978

AGUAYO, A.J., J. KASARJIAN, E. SKAMENE, P. KONGSHAIN, G.M. BRAY: Myelination of mouse axons by Schwann cells transplanted from normal and abnormal human nerves. Nature 268, 753, 1977

AGUAYO, A.J., M. ATTIWELL, J. TRECORTEN, S. PERKINS, BRAY G.M.: Abnormal myelination in transplanted Trembeer mouse Schwann cells. Nature 265, 73-75, 1977

AGUAYO, A.J., J. EPPS, L. CHARION, G.M. BRAY: Multipotentiality of Schwann cells in cross-anastomosed and grafted myelinated and unmyelinated nerves. Brain Res. 104, 1-20, 1976

ALDSKOGIUS, H., J. ARVIDSSON: Nerve cell degeneration and death in the trigeminal ganglion of the adult rat following peripheral nerve transection. J. Neurocytol. 7, 229-250, 1978

ALTMAN, J., G.D. DAS: Autoradiographic and histological evidence of postnatal hippocampal neurogenesis in rats. J.comp.Neurol. 124, 319-336, 1965

ARNEMANN, J.: Versuche an lebendigen Thieren. Bd. II Versuche über das Gehirn und Rückenmark. Göttingen: Joh. Christian Dieterich 1787

ATTARDI, D.G., R.W. SPERRY: Preferential selection of central pathways by regenerating optic fibers. Exp. Neurol. 7, 46-64, 1963

AZMITIA, E.C., A.M. BUCHAU, J. WILLIAMS: Structural and functional restoration by collateral sprouting of hippocampal 5 HT axons. Nature 274, 374-376, 1978

BAUMGARTEN, H.G., L. LACHENMEYER: Axonal regeneration in the CNS of adult mammals. Verh. Anat.Ges. 415-423, 1977

BERLINER, J.A., K. BENNETT, J. De VELLIS: Effect of hydrocortison on cell morphology in C 6 cells. J. Cell Physiol. 94, 321-334, 1978

BERNSTEIN, J.J., M.E. BERNSTEIN: Effect of glial-ependymal scar and Teflon arrest on the regenerative capacity of goldfish spinal cord. Exp. Neurol. 19, 25, 1967

BERNSTEIN, M.E., J.J. BERNSTEIN: Synaptic frequency alteration on rat ventral horn neurons in the first segment proximal to spinal cord hemisection: an ultrastructural statistical study of regenerative capacity. J. Neurocytol. 6, 85-102, 1977

BERNSTEIN, J.J., M.E. BERNSTEIN, M.R. WELLS: Spinal cord regeneration and axonal sprouting in mammals. In: Physiology and Pathobiology of Axons, edit. by G.S. Waxman, New York: Raven Press 1978

BERNSTEIN, J.J., J.B. GELDERD: Synaptic reorganisation following regeneration of goldfish spinal cord. Exp. Neurol. 41, 402-410, 1973

BERNSTEIN, J.J., M.R. WELLS, M.E. BERNSTEIN: Spinal cord regeneration: synaptic renewal and neurochemistry. In: Neuronal Plasticity, edit. by C.W. Cotman, New York: Raven Press 1978 (a)

BERNSTEIN, J.J., M.R. WELLS, M.E. BERNSTEIN: Effect of puromycin treatment on the regeneration of hemisected and transected rat spinal cord. J. Neurocytol. 7, 215-228, 1978 (b)

BERRY, M., A.C. RICHES: An immunological approach to regeneration in the central nervous system. Br.Med.Bull.30, 135-140, 1974

BJÖRKLUND, A.: Re-establishment of functional connections by regenerating central adrenergic and cholinergic axons. Nature 253, 446, 1975

BJÖRKLUND, A., R. KATZMAN, U. STENEVI, K.A. WEST: Development and growth of axonal sprouts from noradrenaline and 5-hydroxytryptamine neurones in the rat spinal cord. Brain Res. 31, 21-33, 1971

BJÖRKLUND, A., A. NOBIN, U. STENEVI: Regeneration of central serotonin neurones after axonal degeneration induced by 5,6 dihydroxytryptamine. Brain Res. 50, 214-220, 1973

BJÖRKLUND, A., U. STENEVI: Growth of central catecholamine neurones into smooth muscle grafts in the rat mesencephalon. Brain Res. 31, 1-20, 1971

BJÖRKLUND, A., U. STENEVI: Reformation of the severed septo-hippocampal cholinergic pathways in the adult rat by transplanted septal neurones. Cell Tis.Res. 185, 289-302, 1977

BLAKEMORE, W.F.: Remyelination by Schwann cells of axons demyelinated by in intraspinal injection of 6-aminonicotinamide in the rat. J.Neurocytol. 4, 745-757, 1975

BLAKEMORE, W.F.: Observation on remyelination in the rabbit spinal cord following demyelination induced by lysolecithin. Neuropath.appl.Neurobiol. 4, 47-59, 1978

BLAKEMORE, W.F., R. PATTERSON: Observations on the interactions of Schwann cells and astrocytes following X-irradiation of neonatal rat spinal cord. J. Neurocytol. 4, 573-585, 1975

BLINZINGER, K., H. HAGER: Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Feinstruktur ruhender und progressiver Mikrogliazellen. Beitr.path. Anat. 127, 173-192, 1962

BLINZINGER, K., G. KREUTZBERG: Displacement of synaptic terminals from regenerating motoneurons by microglial cells. Z.Zellforsch. 85, 145-157, 1968

BOWEN, F.P., S.E. KARPIAK, C. DEMIRJIAN, R. KATZMAN: Sprouting of noradrenergic nerve terminals subsequent to freeze lesions of rabbit cerebral cortex. Brain Res. 83, 1-14, 1975

BROWN-SÉQUARD, M.: Régénération des tissus de la moelle épinière. Gaz. méd. Paris 5, 250, 1850

BUNGE, R.P., M.B. BUNGE, H. RIS: Electron microscopic observations on normal, demyelinating and remyelinating white matter. IV. Internat. Kongreß f. Neuropathologie 1961

BUNGE, R.P., M.B. BUNGE: Evidence that contact with connective tissue matrix is required for normal interaction between Schwann cells and nerve fibers. J. Cell Biol. 78, 943-950, 1978

CAJAL, R.y.: Regeneration and regeneration of the nervous system. New York: Hafner Publ.Comp. 1928

CANKOVIC, J.G.: Contribution to the study of regenerative-degenerative qualities of the fasciali optici in mammals under experimental conditions. Acta anat. 70, 117-123, 1968

CARTER, S.: The current status of research on growth and regeneration in the central nervous system. Summary of a subcommittee report commissioned by the national advisory council of the national institute of neurological and communicative disorders and stroke. Surg. Neurol. 5, 157, 1976

CAUSEY, E., H. HOFFMAN: Axon sprouting in partially deneurotized nerves. Brain 78, 661-668, 1955

CLARK, W.E. le G.: The problem of neuronal regeneration in the central nervous system. 11. The insertion of peripheral nerve stumps into the brain. J. Anat. 77, 251, 1943

CLAWSON, C.C., J.F. HARTMAN, R.L. VERNIER: Electron microscopy of the effect of gram-negative endotoxin on the blood-brain-barrier. J. comp. Neurol. 127, 183, 1966

CLEMENTE C.D. , W.F. in WINDLE: Regeneration in the central nervous system XIV: Structural regeneration in the mammalian central nervous system and the role of neuroglia and connective tissue. Charles C. Thomas, Springfield III 1955

COTMAN, C.W.: Neuronal plasticity. New York: Raven Press 1978

CRAMON, D. von: Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchung der gliös-mesenchymalen Narbenstruktur in der experimentell traumatisierten Großhirnrinde des Goldhamsters nach Anwendung des Bakterienpolysaccharides Piromen. Acta neuropath. (Berl.) 31, 219-227, 1975

CULLOCH, J.R. Mc: "Three-Dimensional" Ultramicrotomy. A new electron microscopic technique. J.ultrastruc.Res. 13, 1965

DANIEL, P.M., S.J. STRICH: Histological observations on Wallerian degeneration in the spinal cord of the Baboon, Papio papio. Acta neuropath. (Berl.) 12, 314-328, 1969

DICKSON, R.A., DINLEY, J., G. RUSHWORTH, A. COLWIN: Delayed (degenerate) interfascicular nerve grafting: a new concept in peripheral nerve repair. Br.J.Surg. 64, 698-701, 1977

DUCKER, T.B., G.J. HAYES: Peripheral nerve grafts: Experimental studies in the dog and chimpanzee to define homograft limitations. J. Neurosurg. 32, 236, 1970

ECCLES, J.C.: The plasticity of the mammalian central nervous system with special reference to new growths in response to lesions. Naturwiss. 63, 8-15, 1976

EHINGER, B., B. FALCK, B. SPORRONG: Possible axo-axonal synapses between peripheral adrenergic and cholinergic nerve terminals. Z. Zellforsch. 107, 508-521, 1970

FERINGA, E.R., G.G. GURDEN, W. STRODEL, W. CHANDLER, J. KNAKE: Descending spinal motor tract regeneration after spinal cord transection. Neurol. 23, 599-608, 1973

FERINGA, E.R., R.D. JOHNSON, J.S. WENDT: Spinal cord regeneration in rats after immunosuppressive treatment. Arch. Neurol. 32, 676-683, 1975

FERTIG, A. J.A. KIERNAN, S.S.A.S. SEYAN: Enhancement of axonal regeneration in the brain of the rat by corticotropin and trijodothyronine. Exp. Neurol. 33, 372, 1971

FLINT, G., M. BERRY: A quantitative investigation of the response to injury of the central nervous system of rats treated with ACTH and trijodothyronine. Experientia 566-568, 1973

FREEMAN, L.W.: Neuronal regeneration in the central nervous system of man. Successful growth of intercostal-spinal nerve anastomosis and growth of intercostal nerve spinal cord implant. J. Neurosurg. 417-422, 1961

GAMBLE, H.J., A.S. BREATHNACH: An electron microscope study of human foetal peripheral nerves. J. Anat. 99, 573-584, 1965

GRAZIADEI, P.P.C., G.A. MONTI GRAZIADEI: The olfactory system: A model for the study of neurogenesis and axon regeneration in mammals. In: Neuronal Plasticity, edit. by C.W. Cotman, New York: Raven Press 1978

GREENE, E.C.: Anatomy of the rat. New York-London: Hafner Publ. Comp. 1968

GUTH, L.: History of central nervous system regeneration research. Experimental Neurol. 48, 3-15, 1975

HAGER, H.: Regenerationsvorgänge am Neuron des zentralen Nervensystems. Verh.dtsch.Ges.Path. , 255-274, 1966

HAGER, H.: Allgemeine morphologische Pathologie des Nervensystems. In: Handbuch der Allgem.Path. 2, 212 Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1967

HALL, S.M.: The Schwann cell: A reappraisal of its role in the peripheral nervous tissue. Neuropath.appl.Neurobiol. 4, 165-176, 1978

HALL, S.M., N.A. GREGSON: The effects of mitomycin C on the process of remyelination in the mammalian peripheral nervous system. Neuropath.appl.Neurobiol. 1, 149-170, 1975

HAYFLICK, L., P.S. MOOREHEAD: The limited in vitro lifetime of human diploid strains. Exp.Cell Res. 36, 614-636, 1965

HILLER, F.: Nerve regeneration in grafts. J.Neuropath.clin. Neurol. 1, 5-25, 1951

IKEDA, K.: Successful peripheral nerve homotransplantation by use of high voltage electron irradiation. Arch.jap.Chirur. 35, 679, 1966

JACOB, H.: Sekundäre retrograde und transynaptische Degeneration In: Hdb. spez.path.Anat.u.Histol. XII/1 A, Hrsg. Henke-Lubarsch. Berlin-Heidelberg-Göttingen: Springer 1957, S. 301

JAKOBY, R.K., C.C. TURBES, L.W. FREEMAN: The problem of neuronal regeneration in the central nervous system. I. The insertion of centrally connected peripheral nerve stumps into the spinal cord. J.Neurosurg. 385-393, 1960

JENKINS, J.S.: The pituitary-adrenal response to pyrogen. Mem. Soc.Endocrin. 17, 205, 1968

JOHNSON, J.E.: A fine structural study of degenerative-regenerative pathology in the surgically deafferentated lateral vestibular nucleus of the rat. Acta neuropath. (Berl.) 33, 227-243, 1975

KAO, C.C.: Comparison of healing process in transected spinal cords grafted with autogenous brain tissue, sciatic nerve and nodose ganglion. Exptl. Neurol. 44, 424-439, 1974

KAO, C.C., L.W. CHANG, J.M.B. BLOODWORTH: Electron microscopic observations of the mechanisms of terminal club formation in transected spinal cord axons. J.Neuropath. Exp. Neurol. 36, 140-156, 1977 (a)

KAO, C.C., L.W. CHANG, J.M.B. BLOODWORTH: Axonal regeneration across transected mammalian spinal cords. An electron microscopic study of delayed microsurgical nerve grafting. Exptl. Neurol. 54, 591-615, 1977 (b)

KATZMAN, R., A. BJÖRKLUND, Ch. OWMAN, U. STENEVI, K. A. WEST: Evidence for regenerative axon sprouting of central catecholamine neurons in the rat mesencephalon following electrolytic lesions. Brain Res. 25, 579-596, 1971

KATZMAN, R., R. BROIDA, C.S. RAINE: Reinnervation, myelination and organization of iris tissue implanted into the rat midbrain. An ultrastructural study. Brain Res. 138, 423-443, 1977

KIERNAN, J.A.: Pituicytes and the regenerative properties of neurosecretory and other axons in the rat. J. Anat. 109, 97-114, 1971

KIERNAN, J.A.: An explanation of axonal regeneration in peripheral nerves and its failure in the central nervous system. Medical Hypotheses 4, 15-26, 1978

KNOWLES, J.F., M. BERRY: Effect of enzyme treatment of central nervous system lesions in the rat. Exptl. Neurol. 59, 450-454, 1978

KOELLA, W.P., J. SUTIN: Extra-blood-brain-barrier brain structures Int.Rev.Neurobiol. 10, 31, 1967

KRUGER, L., D.S. MAXWELL: Electron microscopy of oligodendrocytes in normal rat cerebrum. Am.J.Anat. 118, 411-436, 1966

LAMPERT, P., M. CRESSMAN: Axonal regeneration in the dorsal columns of the spinal cord of adult rats. An electron microscopic study. Lab. Invest. 13, 825-839, 1964

LANE, J.M., W. BORA, D. PLEASURE: Neuroma scar formation in rats following peripheral nerve transection. J. Bone a. Joint Surg. 60-A, No. 2, 1978

LEE, J.C.: Evolution in the concept of the blood-brain-barrier phenomenon. Prog. Neuropath. 1, 84, 1971

LEE, K.S., E.J. STANFORD, C.W. COTMAN, G.S. LYNCH: Ultrastructural evidence for bouton proliferation in the partially deafferented dentate gyrus of the adult rat. Exp. Brain Res. 29, 475-485, 1977

LEINFELDER, P.J.: Retrograde degeneration in the optic nerves and retinal ganglion cells. Trans. Amer.ophthal. Soc. 36, 307, 1938

LEOD, J.G. Mc., J.C. HARGRAVE, R.S. GYE, J.D. POLLARD, J.C. WALSH: Nerve grafting in leprosy. Brain 98, 203-212, 1975

LEONHARDT, H.: Histologie, Zytologie und Mikroanatomie des Menschen. Stuttgart: Thieme Verlag 1974

LEVINTHAL, R., W.J. BROWN, R.W. RAND: Fascicular nerve allograft evaluation. Part 1: Comparison with autografts by light microscopy. J. Neurosurg. 48, 423-427, 1978 (a)

LEVINTHAL, R., W.J. BROWN, R.W. RAND: Preliminary observation on the immunology of nerve allograft rejection. Surgery, Gynecology and Obstetrics, 146, 57, 1978 (b)

LIU, C.N., W. W. CHAMBERS: Intraspinal sprouting of dorsal root axons. Arch.Neurol.Psychiatr. (Chic.) 79, 46-61, 1958

MARTINIAN, L.A., W.F. WINDLE: Functional and structural restitution after transection of the spinal cord. Anat. Rec. 181, 423, 1974

MAXWELL, D.S., L. KRUGER: The fine structure of astrocytes in the cerebral cortex and their response to focal injury produced by heavy ionizing particles. J.Cell Biol.25, 141-157, 1965

MAXWELL, D.S., L. KRUGER: The reactive oligodendrocyte. An electron microscopic study of cerebral cortex following alpha particle irradiation. Am.J.Anat. 118, 437-460, 1966

MEYER-KÖNIG, E.: Ultrastruktur der Glia und Axonschädigung durch 6-Aminonicotinamid (6 An) am Sehnerv der Ratte. Acta neuropath. (Berl.) 26, 115-126, 1973

MOTTE, D.J. de la, G. ALLT: Crush injury to peripheral nerve. An electron microscope study employing horse radish peroxidase. Acta neuropath. (Berl.) 36, 9-19, 1976

NATHANIEL, E.J.H., D.R. NATHANIEL: Degeneration of dorsal roots in the adult rat spinal cord. Exptl. Neurol. 40, 316-332, 1973

NYGREN, L.G., L. OLSON, A. SEIGER: Regeneration of monoamine-containing axons in the developing and adult spinal cord of the rat following intraspinal 6-OH-dopamin injections or transections. Histochem. 28, 1-15, 1971

OLSSON, Y., K. KRISTENSSON: The perineurium as a diffusion barrier to protein tracers following trauma to nerves. Acta neuropath. (Berl.) 23, 105-111, 1973

OSTERHOLM, J.L.: The pathophysiological response to spinal cord injury. The current status of related research. J. Neurosurg. 40, 5, 1974

PERSSON, L., H.A. HANSSON, P. SOURANDER: Extravasation, spread and cellular uptake of evans blue-labelled albumine around a reproducible small stab wound in the rat brain. Acta neuropath. (Berl.) 34, 125-136, 1976

PIATT, J.: Regeneration in the central nervous system of amphibia. In: Regeneration in the central nervous system edit. by W.F. Windle, Springfield, Illinois: Thomas 1955 p. 20

PICKEL, V.M., H. KREBS, F.E. BLOOM: Proliferation of norepinephrine-containing axons in rat cerebellar cortex after peduncle lesions. Brain Res. 59, 169-179, 1973

POLLARD, J.O., L. FITZPATRICK: An ultrastructural comparison of peripheral nerve allografts and autografts. Acta Neuropathol. 23, 152-165, 1973 (a)

POLLARD, J.D., L. FITZPATRICK: A comparison of the effects of irradiation and immunsuppressive agents on regeneration through peripheral nerve allografts: an ultrastructural study. Acta Neuropathol. 23, 166-180, 1973 (b)

PRENDERGAST, J., D. J. STELZNER: Increases in collateral axonal growth rostral to a thoracic hemisection in neonatal and weanling rat. J. Comp. Neurol. 166, 145-162, 1976 (a)

PRENDERGAST, J, D.J. STELZNER: Changes in the magnocellular portion of the red nucleus following thoracic hemisection in the neonatal and adult rat. J. Comp. Neurol. 166, 163-172, 1976 (b)

PROCHAZKA, M., M. VOLTNEROVA, J. STEFAN: Studies of immunologic reactions after brain injury. I. Antibodies against brain tissue lipids after experimental injury of the brain in rabbits. Internat. Surg. 55, 316, 1971

RAINE, C.S., U. TRAUGOTT, S.H. STONE: Glial bridges and Schwann cell migration during chronic demyelination in the CNS. J. Neurocytol. 7, 541-553, 1978

RAINE, C.S., H. WISNIEWSKI: On the occurence of microtubules within mature astrocytes. Anat. Rec. 167, 303-308, 1970

RAISMAN, G.: Neuronal plasticity in the septal nuclei of the adult rat. Brain Res. 14, 25-48 , 1969

RAISMAN, G.: What hope for repair of the brain. Ann. Neurol. 3, Editorial Review, 101-106, 1978

RAISMAN, G., P.M. FIELD: A quantitative investigation of the development of collateral reinnervation after partial deafferentation of the septal nucleus. Brain Res. 50, 241-264, 1973

ROMINE, J.S., A.J. AGUAYO, G.M. BRAY: Absence of Schwann cell migration along regenerating unmyelinated nerves. Brain Res. 95, 601-606, 1975

SANDERS, F.K., J.Z. YOUNG: The degeneration and re-innervation of grafted nerves. J. Anat. 76, 143-166, 1949

SCHEFF, S., L. BENARDO, C. COTMAN: Progressive brain damage accelerates axon sprouting in the adult rat. Science 197, 795-797, 1977

SCHLOTE, W.: Die läsionsbedingten primär-retrograden Veränderungen der Axone zentraler Nervenfasern im elektronenmikroskopischen Bild. Acta neuropath. 4, 138-157, 1964

SCHLOTE, W.: Der Aufbau von Schichtenkörpern im Axoplasma durchtrennter Opticusfasern distal der Läsion. J. Ultrastruc. Res. 16, 548-568, 1966

SCHLOTE, W.: Nervus opticus und experimentelles Trauma. Monographien aus dem Gesamtgebiet der Neurologie und Psychiatrie. Berlin: Springer Verlag 1970

SCHRÖDER, J.M., K.E. SEIFFERT: Feinstruktur der neuromatösen Neurotisation von Nerventransplantaten. Virch.Arch., Abt. B Zellpath. 5, 219-235, 1970

SINGH, R., S.A. De LANGE: Experience with homologous lyophilized nerve grafts in the treatment of peripheral nerve injuries. Acta neurochirur. 32, 125, 1975

SPENCER, P.S., P.K. THOMAS: Ultrastructural studies of the dying-back process. II. The sequestration and removal by Schwann cells and oligodendrocytes of organelles from normal and diseased axons. J. Neurocytol. 3, 763-783, 1974

SPENCER, P.S., H.J. WEINBERG: Axonal specification of Schwann cell expression and myelination. In: Physiology and Pathobiology of Axons, edit. by S.G. Waxman, New York: Raven Press 1978

STEFAN, J., M. PROCHAZKA, M. VOLTNEROVA: Studies of immunologic reactions after brain injury. II. Antibodies against brain tissue lipids after blint head injury in man. Internat. Surg. 55, 322, 1971

SUNDERLAND, S.: Nerve and nerve injuries. Livingstone, Edinburgh: Churchill, 1978, 2nd Ed. p. 603-636

SVENDGAARD, N.A., A. BJÖRKLUND, U. STENEVI: Regeneration of central cholinergic neurones in the adult rat brain. Brain Res. 102, 1-22, 1976

TANI, E., T. HAGAKI, M. NAKANO: Tight junctions of oligodendrocytes. Cell Tiss.Res. 184, 139-142, 1977

TAPOSH, K., M.D. DAS GUPTA: Mechanism of rejection of peripheral nerve allografts. Surgery, Gynecology and Obstetrics 1058-1068, 1967

THOMAS, P.K.: The cellular response to nerve injury. 1. The cellular outgrowth from the distal stump of transected nerve. J. Anat. 100, 287-303, 1966

THOMAS, P.K., D.G. JONES: The cellular response to nerve injury. 2. Regeneration of the perineurium after nerve section. J. Anat. 101, 45-55, 1967

TORVIK, A., F. SKJÖRTEN: Electron microscopic observations on nerve cell regeneration and degeneration after axon lesions. II. Changes in the glial cells. Acta Neuropath. 263-282, 1971

TSUKAHARA, N., H. HULTBORN, F. MURAKAMI, Y. FUJITO: Physiological evidence of collateral sprouting and formation of new synapses in the red nucleus following partial denervation. Golgi Centennial Symposium Proceedings. Edit. by M. Santini. New York: Raven Press 1975, p. 299-303

VAUGHN, J.E.: An electron microscopic analysis of gliogenesis in rat optic nerves. Z. Zellforsch. 94, 293-324, 1969

VAUGHN, J.E., R.P. SKOFF: Neuroglia in experimentally altered central nervous system. In: The structure and function of nervous tissue. Edit. by G.H. Bourne. New York, London: Academic Press 1972

VENABLE, J.H., R. COGGESHALL: A simplified lead citrate stain for use in electron microscopy. J. Cell Biol. 25, 407, 1965

VERHOOG, B.D., D.W. van BEKKUM: Peripheral nerve allografts: modifications of allografts reaction using experimental model in rats. Transplantation Proceedings III, 591, 1971

WAXMAN, S.G.: Physiology and pathobiology of axons. New York: Raven Press 1978

WEINBERG, H.J., P.S. SPENCER: The fate of Schwann cell isolated from axonal contact. J. Neurocytol. 7, 555-569, 1978

WEISS, P., M.V. EDDS: Spontaneus recovery of muscle following partial denervation. Am.J.Physiol. 145, 587-607, 1946

WEISS, P., A.C. TAYLOR: Further experimental evidence against neurotropism in nerve regeneration. J. exp. Zool. 95, 233, 1944

WOLBURG, H: Growth and myelination of goldfish optic nerve fibers after retina regeneration and nerve crush. Z. Naturforsch. 33c, 988-996, 1978

WOLMAN, L.: Post-traumatic regeneration of nerve fibers in the human spinal cord and its relation to intramedullary neuroma. J. Path. Bact. 94, 123-129, 1967

Mein herzlicher Dank gilt Herrn Prof. Dr. W. Schlote. Aufrichtig bedanken möchte ich mich auch bei Herrn Dr. H. Wolburg, Frau M. Reichenbächer-Lux und Frau B. Sabrowski

Lebenslauf

Geboren am 26. 11. 53 in Erpolzheim, Kreis Bad Dürkheim / Weinstraße als Sohn von Rudolf Ernst Enke und Maria Marianne Enke.

Meine Schulzeit verbrachte ich in Frankfurt, Darmstadt und Reutlingen. 1972 legte ich am Johannes-Kepler Gymnasium in Reutlingen das Abitur ab.

Es folgte der Wehrdienst in Großengstingen, Kempten und München.

Ab Wintersemester 1974 Studium der Medizin in Tübingen.

Seit April 1979 bin ich verheiratet.

Das medizinische Staatsexamen erfolgte in Tübingen am 10. 4. 1981.